

# TESTE GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL NÃO INVASIVO PARA TRIAGEM DE ANEUPLOIDIAS EM BLASTOCISTOS HUMANOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

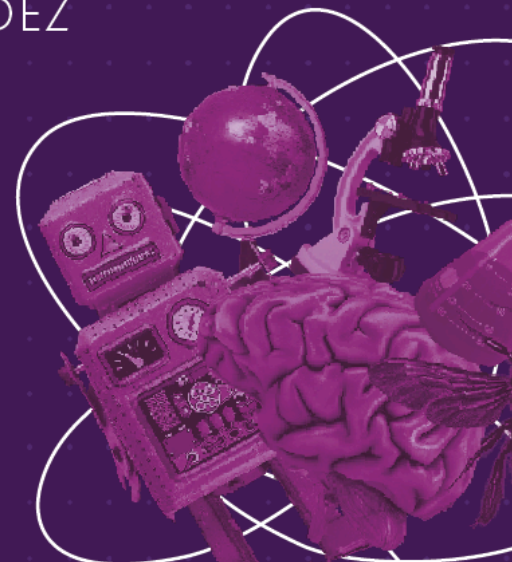
Professor orientador: Bruno Ramalho de Carvalho

Alunas: Giovana Santos Viana e Isabella Ferreira  
Colomietz

PROGRAMA DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
PIC/CEUB

**RELATÓRIOS DE PESQUISA**  
VOLUME 10 Nº 1- JAN/DEZ  
**2024**

ISSN: 2595-4563 | EDIÇÃO 2024 | VOLUME 10



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB  
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**GIOVANA SANTOS VIANA  
ISABELLA FERREIRA COLOMIETZ**

**TESTE GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL NÃO INVASIVO PARA TRIAGEM DE  
ANEUPLOIDIAS EM BLASTOCISTOS HUMANOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pesquisa e Extensão.

Orientação: Bruno Ramalho de Carvalho

**BRASÍLIA  
2025**

## DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho a todas as mulheres e famílias que enfrentam, com coragem e esperança, o desafiador caminho da fertilização in vitro. Àquelas que lidam com os altos custos do tratamento, com as incertezas e, por vezes, com a dor das tentativas frustradas de gestação.

Que esta pesquisa, de alguma forma, contribua para tornar mais acessível e viável o sonho de gerar e acolher uma nova vida, amparando a jornada de quem não desiste de acreditar no milagre de ser mãe.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer, primeiramente, ao nosso orientador, Bruno Ramalho de Carvalho, pela orientação atenta, disponibilidade e valiosas contribuições ao longo de todas as etapas deste trabalho. Sua dedicação, paciência e incentivo foram fundamentais para o desenvolvimento do projeto. Os aprendizados proporcionados pelo professor, não somente acerca do tema, mas também das normas e da iniciação científica como um todo, serão carregadas para o resto de nossas vidas acadêmicas e profissionais. Somos muito gratas, seus ensinamentos foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

Estendemos nossa gratidão aos nossos familiares, amigos, namorado e entes queridos, pelo apoio constante, compreensão e encorajamento, que nos motivaram e fortaleceram ao longo do curso e, igualmente, durante todo o processo de confecção desta pesquisa.



## RESUMO

O teste genético pré-implantacional para pesquisa de aneuploidias (PGT-A) é uma ferramenta amplamente utilizada na triagem de aneuploidias em embriões humanos gerados por fertilização in vitro (FIV), tradicionalmente realizado por meio de biópsia de trofoectoderma (TE). No entanto, essa técnica é invasiva, requer infraestrutura laboratorial especializada e, em tese, pode comprometer a viabilidade embrionária. Diante disso, surgem abordagens alternativas, como o teste genético pré-implantacional não invasivo (niPGT-A), que utiliza o DNA livre de células (cfDNA) liberado no meio de cultivo embrionário. Este projeto teve como objetivo realizar uma revisão sistemática da literatura para avaliar a acurácia diagnóstica do niPGT-A em comparação com a biópsia de TE. Foram analisados estudos que compararam diretamente os dois métodos quanto à taxa de concordância, sensibilidade, especificidade e aplicabilidade clínica. Os resultados indicaram que, embora o niPGT-A apresente desempenho promissor e potencial para reduzir os riscos à integridade embrionária, ele ainda enfrenta limitações importantes, como baixa padronização dos protocolos laboratoriais, contaminação por DNA materno e falhas na amplificação do cfDNA. Conclui-se que o niPGT-A representa uma alternativa complementar viável, mas ainda necessita de validação clínica por meio de estudos controlados e multicêntricos antes de sua incorporação rotineira na prática clínica reprodutiva.

**Palavras-chave:** diagnóstico genético pré-implantação; desenvolvimento do embrião pré-implantação; técnicas de reprodução assistida.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>9</b>
1.1	Contextualização da pesquisa	10
1.2	Objetivos	10
1.2.1	Objetivo geral	10
1.2.2	Objetivos específicos	10
<b>2</b>	<b>Fundamentação teórica</b>	<b>11</b>
2.1	Breve histórico das 3 décadas de evolução do PGT	11
2.2	PGT-A – o rastreamento de aneuploidias antes da implantação	12
<b>3</b>	<b>Método</b>	<b>14</b>
<b>4</b>	<b>Resultados e discussão</b>	<b>16</b>
4.1.	Sistematização dos resultados da pesquisa	16
4.2	Discussão	34
4.2.1	Acurácia diagnóstica do niPGT-A	34
4.2.2	Desafios técnicos do niPGT-A	37
4.2.2.1	Contaminação do SCM por DNA materno	37
4.2.2.2	Contaminação por DNA Exógeno	38
4.2.2.3	Possíveis origens cfDNA embrionário	38
4.2.2.4	Mosaicismo embrionário	39
4.2.2.5.	Condições de cultivo dos blastocistos para o niPGT-A	39
4.2.3	Viabilidade clínica e operacional da implementação prática do niPGT-A	40
4.2.4	Potenciais aplicações futuras do niPGT-A	41
<b>5</b>	<b>Considerações finais</b>	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>44</b>

## 1 Introdução

A infertilidade é definida como uma doença do sistema reprodutivo em que a gravidez clínica não é obtida após um período de 12 meses de relações sexuais desprotegidas e frequentes (Zegers-Hochschild *et al.*, 2017). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a prevalência de infertilidade no mundo é estimada em 17,5%, podendo atingir 20% nas Américas (World Health Organization, 2023). Sem dúvidas, a tendência de adiamento da procriação entre as mulheres contribui para o cenário (Yang *et al.*, 2023) e, com a idade materna avançada cada vez mais frequente, cresce a preocupação com a possibilidade de aneuploidias embrionárias, que são causas comuns de falha de implantação e aborto espontâneo (Sun *et al.*, 2024).

As técnicas de reprodução assistida (TRA) são os recursos terapêuticos disponíveis e mais eficazes para uma parcela expressiva dos casos de infertilidade. O registro mais recente do uso das TRA na América Latina observou um aumento de cerca de 30% entre os ciclos realizados em 2020 e 2021 (Zegers-Hochschild *et al.*, 2025).

No contexto, o teste genético pré-implantacional para pesquisa de aneuploidias (PGT-A, do inglês, *preimplantation genetic testing for aneuploidy*), a partir da biópsia do trofoectoderma (TE) embrionário, utiliza técnicas de biologia molecular a fim de detectar e analisar o material genético, triar cromossomos e selecionar embriões euploides para transferência para a cavidade uterina (Yang *et al.*, 2023). Além da idade materna avançada, são indicações frequentes para o PGT-A o aborto espontâneo recorrente (ERA), a falha recorrente na implantação embrionária (RIF, do inglês *repeated implantation failure*) e as alterações em cariótipo de um dos genitores ou de filhos prévios (Del Collado *et al.*, 2023; Kimelman; Pavone, 2021).

A biópsia embrionária para o PGT-A visa a remoção de células do TE do blastocisto, seguida pela sua análise, para detecção de aneuploidias, como trissomias ou monossomias, sendo o sequenciamento de nova geração (NGS) a tecnologia mais recentemente incorporada (Tomic *et al.*, 2022; Sakkas *et al.*, 2024). No entanto, há, na comunidade científica, o receio de que as biópsias de embriões, por serem procedimentos invasivos, possam impactar o desenvolvimento embrionário e a saúde da prole, ou desencadear alterações epigenéticas, o que impulsiona pesquisas acerca de abordagens não invasivas para o diagnóstico ou triagem

genética pré-implantação (Yang *et al.*, 2023), vistas positivamente, também pelo menor custo e fácil manejo (Moustakli *et al.*, 2024).

A versão não invasiva do PGT-A (niPGT-A) utiliza o ácido desoxirribonucleico (DNA) livre liberado pelo embrião no meio de cultivo usado (SCM, do inglês, *spent culture medium*), coletado sem biópsia ou contato direto com o embrião, evitando possíveis danos e preservando a viabilidade. Embora essa abordagem seja menos arriscada, ela enfrenta desafios como a baixa quantidade de DNA disponível, possíveis contaminações e a necessidade de técnicas avançadas de amplificação e detecção para garantir resultados precisos, fatores que ainda limitam seu uso na prática clínica (Sakkas *et al.*, 2024).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Revisar, de forma sistemática, a atual base de evidências acerca das técnicas de niPGT-A em blastocistos humanos e seu potencial de aplicação no contexto das TRA.

### **Objetivos específicos**

- Investigar a correspondência entre os achados do niPGT-A realizado em meio de cultivo embrionário e os achados do PGT-A convencional, realizado a partir da biópsia de trofoblasto.
- Identificar os desafios e as soluções possíveis para substituição do PGT-A convencional pelo niPGT-A na prática cotidiana em laboratórios de reprodução assistida.

## 2 Fundamentação teórica

### 2.1. Breve histórico das 3 décadas de evolução do testes genéticos pré-implantacionais

A evolução dos testes genéticos pré-implantacionais foi impulsionada pelos avanços das técnicas de biópsia de embriões, ao longo de três décadas, e, mais recentemente, pelo desenvolvimento de métodos minimamente invasivos ou não invasivos (Cimadomo *et al.*, 2020).

As primeiras experiências ocorreram em 1989, quando Handyside *et al.* (1990) realizaram biópsias no estágio de clivagem para identificar o sexo de embriões em risco de doenças ligadas ao cromossomo X. Quase simultaneamente, Dokras *et al.* (1990) reportaram as primeiras tentativas de biópsia de TE em blastocistos humanos, buscando obter mais material para análise sem comprometimento da massa celular interna (ICM). Ainda àquela época, Verlinsky *et al.* (1990) foram pioneiros na biópsia de corpúsculos polares (PB) para teste genético pré-implantacional (PGT) tanto para triagem de aneuploidias quanto para detecção de doenças monogênicas, sem intervenção direta ao embrião advindo da fertilização *in vitro* (FIV). Nesse mesmo período, por fim, dois avanços tecnológicos foram fundamentais para a análise de célula única: a introdução da hibridização *in situ* por fluorescência (FISH, do inglês *fluorescence in situ hybridization*) para sexagem embrionária e testes de autossomos, e da amplificação do genoma completo (WGA, do inglês *whole genome amplification*) para aumentar a quantidade de DNA a ser analisada (Cimadomo *et al.*, 2020).

Entre 1997 e 2008, os protocolos foram significativamente aprimorados, devido à ampliação do acesso à biópsia e à otimização de técnicas existentes. Entretanto, surgiam preocupações em relação ao impacto da extração de células embrionárias, especialmente quanto a seus possíveis efeitos adversos no cultivo e na implantação, à prevalência de mosaicismos cromossômico e aos custos adicionais do procedimento (Cimadomo *et al.*, 2020). Também entre 2010 e 2011, reconheceram-se as limitações da FISH e a elevada prevalência de mosaicismos cromossômico em blastômeros, fatores que comprometem a eficácia do PGT-A baseado na biópsia de uma única célula. Esse cenário impulsionou a busca por estratégias mais eficientes e seguras, em embriões em estágio de blastocisto, pela biópsia de TE, além de se manter o incentivo a investigações adicionais sobre a biópsia de corpúsculos polares (Cimadomo *et al.*, 2020).

A biópsia de TE consolidou-se, então, como o padrão ouro para PGT, favorecida pela integração com a vitrificação embrionária. Os estudos de Scott *et al.* (2012) e de Scott *et al.* (2013) demonstraram a superioridade da biópsia de TE em relação à de blastômeros, com menor impacto sobre o potencial de implantação. Protocolos específicos foram padronizados, como a abertura da zona pelúcida (ZP) no dia 3 e posterior biópsia de TE, ou a abertura sequencial da ZP com retirada de células de TE entre os dias 5 e 7 de cultivo. Diversos estudos confirmaram a segurança e reprodutibilidade dessa técnica, inclusive entre operadores com diferentes níveis de experiência, e metanálises reafirmaram a segurança da biópsia de blastocisto em relação aos desfechos neonatais (Cimadomo *et al.*, 2020).

Atualmente, pesquisadores concentram esforços no desenvolvimento de métodos menos invasivos. A blastocentese, que consiste na aspiração do fluido da blastocèle (BF) para obtenção de DNA livre de células, surge como uma alternativa promissora. Entretanto, a quantidade e a integridade do DNA ainda variam significativamente, o que limita sua aplicação clínica rotineira para PGT. A iniciativa mais inovadora é a análise do DNA livre de células liberado pelo embrião no meio de cultivo. Embora o diagnóstico de doenças monogênicas seja considerado inviável, os dados para rastreamento de aneuploidias são mais promissores. Apesar dos desafios atuais, protocolos verdadeiramente não invasivos têm demonstrado boa taxa de amplificação e evoluem na concordância com os resultados de biópsias embrionárias, motivando a continuidade dos esforços para validação, padronização e reprodutibilidade para a implementação clínica ampla (Cimadomo *et al.*, 2020).

## **2.2. PGT-A – o rastreamento de aneuploidias antes da implantação**

Atualmente, no contexto das TRA, a ferramenta mais difundida de rastreamento genético é o PGT-A. Por esse método, é possível identificar embriões portadores de alterações cromossômicas numéricas antes da transferência para a cavidade uterina, em um ciclo TRA. Convencionalmente, o PGT é realizado por meio de uma abordagem invasiva, que consiste na remoção de células do trofotoderma de embriões em estágio de blastocisto e análise por sequenciamento de nova geração (NGS), com o intuito de identificar aneuploidias, como trissomias e monossomias (Sakkas *et al.*, 2019).

Em contraposição, a descoberta da liberação de DNA livre de células (cfDNA, do inglês, *cell free-DNA*) de embriões humanos para o ambiente circundante abriu caminho para

o niPGT-A. A coleta do meio de cultivo (SCM, do inglês, *spent culture medium*) representa risco mínimo para o embrião, a oferecer a possibilidade da análise cromossômica a partir de uma abordagem não invasiva (Nuñez-Calonge *et al.*, 2024; Sakkas *et al.*, 2019).

Embora a substituição da biópsia embrionária por métodos não invasivos apresente claras vantagens práticas e econômicas, além de reduzir substancialmente, ou até eliminar, o risco de dano ao embrião, a confiabilidade das abordagens de niPGT-A tem se mostrado variável, especialmente no que se refere à taxa de amostras que geram dados utilizáveis e à concordância dos resultados genéticos em comparação com os obtidos por biópsias de trofotoderma. Entre as limitações relevantes, estão a baixa concentração de DNA disponível, o risco de contaminação exógena, falhas na amplificação do DNA (exigindo plataformas altamente sensíveis de detecção e amplificação), imprecisões diagnósticas, além de não atender, até o momento, aos três critérios essenciais para a validação adequada de um teste clínico: sensibilidade e especificidade adequadas, reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados, e utilidade clínica comprovada (Sakkas *et al.*, 2019; Moustakli *et al.*, 2024). A variabilidade entre os estudos evidencia a necessidade de padronização metodológica e validação adicional antes de sua adoção clínica ampla (Leaver *et al.*, 2020).

### 3 Método

Foi realizada uma pesquisa sistemática, qualitativa, de estudos relacionados ao niPGT-A, nas bases de dados PubMed, Scielo e Cochrane Library, publicados até 04 de março de 2025. Foram utilizados os seguintes descritores, combinados a partir de operadores booleanos, em inglês: (nipgta) OR (nipgt-a) OR (Non-invasive PGT) OR (cbNIPT) OR (Non-invasive preimplantation genetic testing) OR (noninvasive PGT-A) OR (spent culture medium cfDNA).

A pesquisa foi realizada de acordo com o *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Statement* (Page *et al.*, 2021). Os critérios de inclusão e exclusão foram aplicados por meio de filtros da plataforma e triagem de artigos com leitura de título e resumo. Os critérios estabelecidos para a inclusão dos estudos foram os seguintes: publicados entre 2018 e 2025; redigidos nos idiomas português, inglês ou espanhol; ensaios clínicos, ensaios randomizados controlados, revisões sistemáticas ou metanálises.

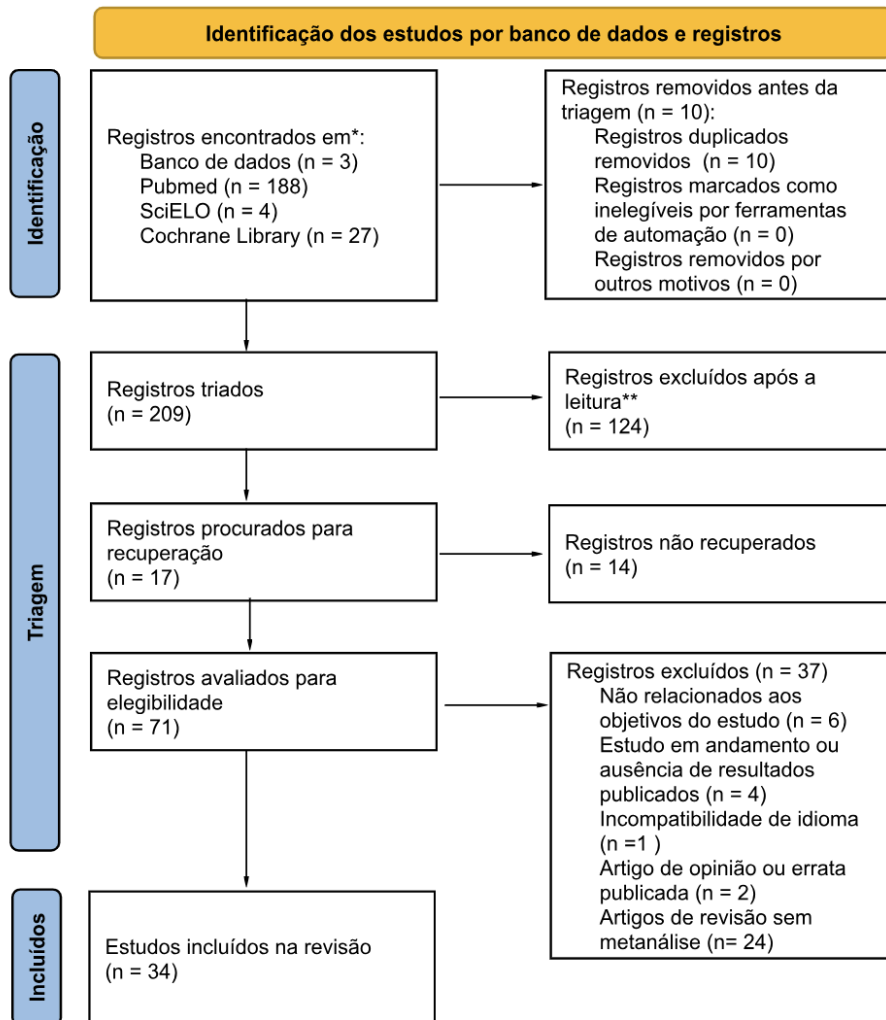
Os dados foram extraídos e sintetizados usando as diretrizes Synthesis Without Meta-analysis (SWiM) (Campbell *et al.*, 2020), para resultados do teste genético pré-implantacional não invasivo para pesquisa de aneuploidias (niPGT-A) na correlação com o teste convencional, realizado pela biópsia de trofoectoderma, bem como nos desfechos reprodutivos, incluindo taxas de implantação embrionária, gravidez, gravidez clínica e em curso, e saúde genética dos nascidos vivos.

Os resultados coletados foram agrupados e divididos em grupos temáticos, conforme os objetivos do estudo, que permitiu uma análise crítica das evidências disponíveis sobre niPGT-A. Registraram-se dados sobre a acurácia diagnóstica do niPGT-A comparada à biópsia de trofoectoderma, a viabilidade clínica e operacional do niPGT-A, as limitações dos estudos incluídos, os desafios técnicos relacionados ao niPGT-A, as potenciais aplicações futuras do niPGT-A e a comparação com revisões ou meta-análises publicadas previamente. Foram identificadas as lacunas no conhecimento e sugeridas possibilidades para futuras pesquisas na área.

Por se tratar de um estudo que utiliza dados secundários, coletados em artigos científicos, não envolvendo a coleta de dados primários em seres humanos, não foi

necessária a elaboração nem a aplicação de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Figura 1 - Diagrama PRISMA.



\*Considere, se for viável, relatar o número de registros identificados em cada banco de dados ou registro pesquisado (em vez do número total em todos os bancos de dados/registros).

\*\*Se ferramentas de automação foram usadas, indique quantos registros foram excluídos por um humano e quantos foram excluídos por ferramentas de automação.

Fonte: elaboração própria.

## 4 Resultados

Foram identificados um total de 219 registros na busca inicial. Após a exclusão de 10 duplicatas e 15 artigos inacessíveis, a triagem individual dos restantes resultou em 34 estudos elegíveis para esta revisão, os quais foram sumarizados no Quadro 1. O processo de seleção dos estudos está resumido na Figura 1.

**Quadro 1** - Síntese dos estudos incluídos na revisão sistemática

AUTORES E ANO	OBJETIVO	TIPO DE ESTUDO	NÚMERO AMOSTRAL	PRINCIPAIS ACHADOS
Huang <i>et al.</i> , (2019).	Avaliar a eficácia e confiabilidade do teste genético pré-implantacional não invasivo (niPGT-A), o qual analisa o DNA livre presente no meio de cultura embrionário (spent medium), em comparação com o teste tradicional baseado em biópsia do trofocitoderma (TE).	Estudo experimental prospectivo comparativo	52 embriões individuais, cada um submetido tanto à técnica não invasiva (meio gasto) quanto à técnica invasiva (biópsia de TE)	O estudo demonstrou que a testagem genética pré-implantacional não invasiva (niPGT-A), por meio da análise do DNA livre no meio de cultura embrionário, apresenta superioridade diagnóstica em relação à biópsia do trofocitoderma (TE) na detecção de aneuploidias. A taxa de concordância do niPGT-A com o genoma embrionário completo foi de 93,8%, superando os 82,0% obtidos com a biópsia de TE. Além disso, o niPGT-A apresentou menor taxa de falsos positivos (20,0% versus 50,0%), maior especificidade (80,0% versus 50,0%) e valor preditivo positivo mais elevado (91,7% contra 78,0%), com valor preditivo negativo de 100% em ambos os métodos. A acurácia do niPGT-A foi ainda condicionada à remoção rigorosa das células maternas da corona radiata, a fim de evitar contaminação genômica. Esses dados reforçam o potencial clínico do niPGT-A como alternativa não invasiva e confiável para a triagem embrionária em ciclos de fertilização in vitro.
Sakkas <i>et al.</i> , (2024).	Investigação se as modificações no protocolo de cultura embrionária necessárias para realizar o teste genético pré-implantacional não invasivo para aneuploidias (niPGT-A) afetam os desfechos reprodutivos clínicos, incluindo o desenvolvimento de blastocisto e os resultados de gravidez.	Estudo retrospectivo multicêntrico	428 pacientes (476 ciclos) no grupo niPGT-A e 1.392 pacientes no grupo controle	O estudo indica como a implementação de um protocolo de cultura embrionária adaptado para testes genéticos pré-implantacionais não invasivos para aneuploidias (niPGT-A) não compromete a viabilidade dos blastocistos nem os desfechos clínicos, como taxas de gravidez clínica, aborto espontâneo e gravidez em andamento, quando comparado ao método invasivo convencional. Esses resultados sugerem que o niPGT-A pode ser integrado de forma segura aos protocolos de fertilização in vitro (FIV), oferecendo uma alternativa menos invasiva para a seleção embrionária.
Chow <i>et al.</i> (2024)	Otimizar o teste genético pré-implantacional não invasivo para aneuploidia (niPGT-A) no laboratório, comparando dois momentos de coleta do meio de cultura gasto (SCM), dois protocolos de lavagem de embriões e o uso da inseminação convencional em vez da	Estudo observacional prospectivo	Dados de ciclos de fertilização in vitro (FIV) realizados entre fevereiro de 2020 e março de 2021 em dois centros em Hong Kong. Não detalha o número específico de participantes e embriões	Demonstrou-se uma taxa de concordância maior quando o SCM foi coletado no 6º dia e os embriões foram lavados sequencialmente. Resultados comparáveis de niPGT-A quando os oócitos foram fertilizados por inseminação convencional ou ICSI. Essas etapas de otimização são importantes antes do início de um ensaio randomizado em niPGT-A.

	injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)			
Li, X. <i>et al.</i> (2021)	Avaliar o potencial do teste genético pré-implantacional não invasivo (niPGT), com DNA livre de células (cfDNA) recuperado do meio de cultura, para diagnosticar blastocistos classificados inicialmente como mosaicos em biópsia de trofocotoderma.	Estudo observacional	41 blastocistos inicialmente classificados como mosaicos por biópsia de trofocotoderma, provenientes de 22 pacientes, que foram re-cultivados por 14–18 horas para avaliação comparativa entre niPGT, re-biópsia de TE e exame do embrião completo	A sensibilidade global do niPGT foi de 100 % (sem falsos negativos) e a especificidade aumentou para 84,8 % após ajuste do limiar. Esses resultados indicam que o niPGT apresenta excelente sensibilidade e alta concordância cromossômica, especialmente quando se utilizam critérios refinados, embora o padrão-ouro permaneça imprescindível para confirmação definitiva.
Tsai <i>et al.</i> (2022)	Validar o teste genético pré-implantação não invasivo para aneuploidia (niPGT-A) usando um fluxo de trabalho de rotina de laboratório de fertilização in vitro.	Estudo observacional e prospectivo	118 meios de cultura usados (SCMs) de 32 casais foram coletados. Um total de 40 SCMs e 40 amostras de biópsia de trofocotoderma (TE) correspondentes ( n = 29) ou embriões parados ( n = 11) foram avaliados para concordância.	Embora se tenha observado diferença nos padrões de cinética embrionária entre embriões euploides e aneuploides, concluiu-se que o niPGT-A, no atual estágio, deve ser considerado um método complementar para priorização de transferência, e não um instrumento substitutivo de diagnóstico completo em cenários clínicos estabelecidos.
Huang <i>et al.</i> (2023)	Investigar e validar o valor diagnóstico do niPGT em pacientes submetidas à fertilização in vitro (FIV).	Meta-análise	-	A análise de subgrupos revelou que o meio de cultura isolado teve maior sensibilidade, mas menor especificidade, comparado ao uso combinado com fluido blastocelular. Além disso, estudos com tamanho amostral inferior a 100 casos mostraram indicadores diagnósticos superiores aos de amostras maiores, sugerindo influência do tamanho sobre a heterogeneidade dos resultados . As análises de sensibilidade e viés de publicação não evidenciaram distorções significativas, reforçando a confiabilidade dos achados . Em conclusão, o método niPGT mostrou-se promissor como alternativa não invasiva para rastreamento genético embrionário, embora os autores recomendem estudos futuros de maior porte para consolidar sua aplicação clínica.
Franco Jr <i>et al.</i> (2020)	Relatar a primeira ocorrência de parto após niPGT-A no Brasil.	Relato de caso	Análise de 11 blastocistos expandidos (3 no dia 5 e 8 no dia 6), dos quais o meio de cultura de 8 blastocistos do dia 6 foi coletado para análise não invasiva. Dentre estas, 7 amostras (de TE e meio) apresentaram resultados informativos válidos para comparação entre os métodos tradicional (biópsia de trofocotoderma) e não invasivo (niPGT-A).	Os autores concluíram que o niPGT-A apresenta cerca de 80 % de confiabilidade para determinar a ploidia, superando abordagens invasivas como morfologia ou morfocinética embrionária, embora recomendem seu uso inicial como instrumento de seleção em pacientes sem indicação formal para PGT-A invasivo
Chen, J. <i>et al.</i> (2020)	Avaliar a eficiência diagnóstica do meio de cultura de blastocisto (BCM) usado em testes genéticos pré-implantação não invasivos (niPGT) comparando a concordância do	Estudo observacional e prospectivo	12 casais doaram seus blastocistos, que haviam sido previamente diagnosticados como aneuploidias ou mosaicos por meio de testes genéticos pré-implantação por biópsia TE para	Para 23 embriões diagnosticados como aneuploides pela biópsia de TE inicial, 78,3% das amostras de TE inicial, 87,0% das amostras de rebiópsia de TE e 78,3% das amostras de BCM foram concordantes com as amostras de ICM correspondentes, e para três embriões mosaico, as taxas de concordância com ICM desses três grupos foram de 0%, 100% e 100%, respectivamente. Com o resultado de ICM correspondente como resultado verdadeiro, a sensibilidade tanto do niPGT-A quanto do TE inicial foi de 100%; no entanto, a taxa de falsos positivos (FPR) do TE inicial foi maior

	cariótipo com a massa celular interna (ICM) correspondente entre biópsia do trofoectoderma (TE) inicial, rebiópsia de TE e amostragem de BCM.		aneuploidia (PGT-A) para pesquisa Um total de 26 blastocistos congelados e descongelados foram reanalisados por nova biópsia por TE, biópsia por ICM e coleta de BCM gasto.	do que a do niPGT-A (100% vs. 0).
Xu <i>et al.</i> (2023)	Comparar a confiabilidade do método não invasivo (cfDNA em BCM) frente ao padrão invasivo (biópsia de TE), utilizando embriões doados como modelo de validação.	Estudo experimental prospectivo	35 embriões humanos doados para pesquisa, totalizando 140 amostras analisadas por amplificação do genoma completo (WGA) e sequenciamento de nova geração (NGS). O embrião inteiro (ICM + RB) foi utilizado como padrão-ouro para avaliação da concordância dos métodos.	O estudo demonstrou que o DNA livre de células (cfDNA) presente no meio de cultura de blastocistos apresenta uma taxa de concordância moderada com o perfil cromossômico obtido pela biópsia de trofoectoderma (TE), quando comparado ao embrião inteiro como padrão-ouro. A concordância entre o meio de cultura e o embrião foi de 68,6%, enquanto entre TE e embrião foi de 77,1%. Além disso, o meio de cultura apresentou menor quantidade e qualidade de DNA amplificável em relação à biópsia de TE. Contudo, embora promissora como método não invasivo, a análise de cfDNA no meio de cultura ainda requer aprimoramento técnico para alcançar a mesma confiabilidade diagnóstica do método invasivo convencional.
Yeung <i>et al.</i> (2019)	Avaliar se meios de cultura usados (SCM) de embriões poderiam ser usados como uma ferramenta não invasiva para a triagem de aneuploidia. Foram comparadas as chamadas de ploidia, bem como as taxas de concordância entre os resultados de PGT-A do trofoectoderma (TE) e do SCM. Os desfechos clínicos de transferências euplóides únicas também foram avaliados.	Estudo observacional	Amostras de células-tronco mesenquimais (SCM) do dia 3 até o(s) dia(s) da biópsia por TE de todos os blastocistos biopsiados foram coletadas para teste. Os resultados do PGT-A da SCM foram comparados com os resultados padrão da TE, com relevância clínica e desfechos examinados.	A NiPGT-A utilizando SCM apresentou sensibilidade de 81,6%, especificidade de 48,3%, valor preditivo positivo de 82,6% e valor preditivo negativo de 46,7% na identificação de ploidia. As taxas de concordância para autossomos e determinação do sexo foram de 62,1% e 82,4%, respectivamente. Houve 14 ciclos de transferência de embriões únicos de euplóides, conforme determinado por biópsia por TE. Os desfechos clínicos não apenas confirmaram 3 resultados falso-positivos de SCM, como também refletiram o verdadeiro status de ploidia do embrião transferido em um caso. Se as identificações de ploidia fossem dicotomizadas sem embriões em mosaico, a sensibilidade e o VPN aumentariam para 91,0% e 66,7% ( $p = 0,60$ e $p = 0,25$ ), respectivamente. Assim, o DNA livre encontrado no SCM pode fornecer informações sobre a ploidia de um embrião, como no PGT-A, a partir de seu TE. Dado seu potencial para refletir o perfil cromossômico abrangente de todo o embrião, mais pesquisas baseadas em resultados clínicos são necessárias para determinar se o SCM pode ser uma ferramenta confiável de seleção no PGT-A.
Shitara <i>et al.</i> (2021)	Avaliar a eficácia do DNA livre de células (cell-free DNA) presente no meio de cultivo embrionário residual em refletir com precisão o status cromossômico dos embriões, comparando seus resultados com os obtidos por biópsia de trofoectoderma	Estudo experimental	26 embriões humanos que foram cultivados além do estágio de implantação in vitro, até o dia 10 de desenvolvimento.	Foi observado uma alta taxa de concordância entre os resultados obtidos pelo cfDNA e aqueles provenientes da biópsia de trofoectoderma, sugerindo que o meio de cultivo pode servir como uma alternativa não invasiva promissora para testes genéticos pré-implantacionais. Além disso, destaca-se o prolongamento do cultivo embrionário contribuindo para o aumento da quantidade e da qualidade do cfDNA, otimizando a acurácia da análise cromossômica.
Kulmann <i>et al.</i> (2022)	Relatar o nascimento do primeiro bebê no Brasil concebido a partir de embriões diagnosticados simultaneamente por PGT-A convencional (biópsia de trofoectoderma) e niPGT-A (análise de	Relato de caso	01 embrião analisado simultaneamente pelos métodos convencional (biópsia de trofoectoderma) e não invasivo (cfDNA no meio de cultura), culminando no nascimento do bebê relatado.	Relata o nascimento do primeiro bebê no Brasil concebido a partir de um embrião diagnosticado simultaneamente por PGT-A convencional e niPGT-A, evidenciando uma taxa de concordância de cerca de 80% entre os métodos. Os resultados demonstram que a análise de DNA livre de células no meio de cultura pode ser uma ferramenta complementar viável e segura para o diagnóstico genético pré-implantacional, potencialmente reduzindo a necessidade de biópsia invasiva e preservando a viabilidade embrionária.

	cfDNA em meio de cultura gasto).			
Hanson <i>et al.</i> (2021)	Validar um teste genético pré-implantação não invasivo disponível comercialmente para aneuploidia (niPGT-A) investigando o seguinte: prevalência de falha de amplificação do ácido desoxirribonucleico (DNA) com niPGT-A; fatores que afetam a falha de amplificação com niPGT-A; e frequência de resultados discordantes entre niPGT-A e testes genéticos pré-implantação tradicionais para aneuploidia .	Estudo de coorte prospectivo	Foram analisados 166 blastocistos e seus meios de cultura circundantes de casais submetidos à fertilização in vitro entre julho de 2019 e maio de 2020.	Este estudo demonstrou que as taxas gerais de falha de amplificação de DNA com niPGT-A foram significativamente maiores do que as taxas de falha de amplificação com a biópsia de TE convencional. A falha de amplificação de DNA com niPGT-A foi ligada tanto à duração do contato entre um embrião e seu meio de cultura circundante quanto à composição genética do embrião. As descobertas do presente estudo diferem de um pequeno número de publicações anteriores que observaram taxas extremamente altas de amplificação de DNA bem-sucedida usando a técnica niPGT-A. As taxas gerais de falha de amplificação de DNA foram inaceitavelmente altas entre as amostras niPGT-A em comparação com as taxas de amplificação de DNA com biópsias de TE tradicionais. Ao contrário de muitas publicações anteriores, o estudo atual aplicou o protocolo niPGT-A a um cenário clínico realista e analisou o meio de cultura que foi exposto a embriões frescos não biopsiados. Atualmente, o niPGT-A usando a plataforma de teste descrita acima carece de precisão e confiabilidade para ser uma ferramenta de diagnóstico útil.
Rubio <i>et al.</i> (2019a)	Avaliar a implementação clínica do teste de aneuploidia embrionária utilizando a técnica de sequenciamento de nova geração (NGS) em biópsias de trofoectoderma.	Estudo retrospectivo/descritivo	Mais de 130.000 embriões biopsiados para teste de aneuploidia, utilizando a técnica de sequenciamento de nova geração (NGS).	A análise dos resultados clínicos revelou que a idade materna avançada era o grupo mais favorecido para o teste de aneuploidia embrionária, com evidências de melhora na taxa de implantação por transferência, redução nas taxas de aborto espontâneo e diminuição do tempo até a gravidez. Os autores concluíram que o NGS se tornou a tecnologia mais apropriada para o teste de aneuploidia em biópsias de trofoectoderma, oferecendo resultados precisos.
Rubio <i>et al.</i> (2019b)	Comparar os resultados do teste genético pré-implantacional (PGT-A) realizado com DNA livre de células (cfDNA) do meio de cultura embrionário com os obtidos por biópsia de trofoectoderma (TE).	Estudo prospectivo comparativo	30 embriões de estágio de blastocisto, provenientes de 31 ciclos de fertilização in vitro (FIV), cultivados de forma individualizada, com coleta de meio de cultura gasto e realização de biópsia de trofoectoderma (TE), visando comparar os resultados de aneuploidia entre cfDNA e TE.	O estudo mostra que o DNA livre de células (cfDNA) presente no meio de cultura gasto dos embriões pode refletir com boa precisão o status cromossômico identificado pela biópsia de trofoectoderma (TE), apresentando uma taxa significativa de concordância entre os dois métodos. Apesar das limitações associadas à baixa quantidade de DNA e possíveis contaminações, os resultados sugerem que o cfDNA constitui uma alternativa promissora e menos invasiva para o teste genético pré-implantacional de aneuploidias (PGT-A), podendo reduzir os riscos associados à biópsia embrionária sem comprometer a acurácia diagnóstica.
Rubio <i>et al.</i> (2020)	Avaliar a concordância entre os resultados do teste genético pré-implantacional realizados a partir do DNA livre de células (cfDNA) presente no meio de cultura gasto e os obtidos por biópsia de trofoectoderma (TE) em blastocistos humanos.	Estudo observacional prospectivo	1.301 blastocistos humanos provenientes de 406 ciclos de fertilização in vitro (FIV) realizados com 371 pacientes com idade entre 20 e 44 anos.	O estudo evidenciou alta concordância entre os resultados do DNA livre de células (cfDNA) no meio de cultura gasto e as biópsias de trofoectoderma (TE) para detecção de aneuploidias em 1.301 blastocistos, confirmando que o cfDNA pode refletir com precisão o status cromossômico embrionário, reforçando seu potencial como método não invasivo para testes genéticos pré-implantacionais.
Chen, L. <i>et al.</i> (2021)	Desenvolver e validar uma estratégia de triagem cromossômica	Ensaio experimental	Três amostras diferentes do mesmo embrião, incluindo TE	Evidenciou-se como a estratégia de triagem cromossômica não invasiva (NICS), baseada na análise do DNA livre de células presente no meio de cultivo embrionário, é capaz de identificar

	não invasiva (Non-invasive Chromosome Screening – NICS), utilizando cfDNA do meio de cultura embrionário, para priorização de embriões para implantação.	comparativo	convencional, o meio de cultura usado correspondente e o embrião inteiro restante de 265 embriões humanos doados de FIV, foram coletadas separadamente e utilizadas para sequenciamento subsequente.	com elevada sensibilidade e especificidade o status cromossômico dos embriões, quando comparada à biópsia de trofoectoderma. Os autores relataram taxas de concordância superiores a 80%, validando o uso do embrião inteiro como padrão-ouro. Além disso, desenvolveram um sistema de pontuação que permite classificar os embriões conforme a probabilidade de euploidia, contribuindo para a priorização segura e eficiente de embriões para transferência. O artigo sustenta o potencial clínico da NICS como uma alternativa não invasiva e confiável para otimizar os resultados da fertilização in vitro.
Ramalho <i>et al.</i> (2022)	Alertar a comunidade científica sobre os desafios persistentes à confiabilidade do niPGT-A (teste pré-implantacional para aneuploidias não invasivo).	Carta ao editor	-	Destaca-se as limitações atuais do niPGT-A, com ênfase na ampla variabilidade dos resultados de concordância entre os testes não invasivos e a biópsia de trofoectoderma, que variam de 30% a 94%. Além disso, traz fatores técnicos como baixa quantidade de cfDNA, risco de contaminação e ausência de padronização metodológica, os quais comprometem a confiabilidade do método. Contudo, adverte sobre os riscos da adoção clínica prematura do niPGT-A e reforça a necessidade de estudos mais robustos e bem controlados antes de sua aplicação rotineira.
Yang <i>et al.</i> (2023)	Analisar o desempenho do diagnóstico genético Pré-Implantação Não Invasivo (ni-PGT), utilizando Fluido de Blastocelo (BF) e Meio de Cultura Usado (SCM) derivados de uma amostra de 218 embriões de Fertilização In Vitro (FIV), em contraste com os métodos tradicionais que utilizam todo o blastocisto e a massa celular interna obtidos por biópsia embrionária.	Estudo de coorte	218 embriões de Fertilização In Vitro (FIV) doados por 40 casais.	A similaridade genômica geral entre SCM e ICM foi maior do que a de BF, concluindo que o SCM efetivamente obtém DNA embrionário para ni-PGT. Além disso, o sequenciamento do genoma mostrou a viabilidade do SCM como um recurso não invasivo. Este estudo indica que o SCM fornece uma fonte mais eficaz de DNA embrionário para triagem genética pré-implantação, oferecendo um novo ponto de referência para a pesquisa de triagem genética.
Sialako <i>et al.</i> (2021)	Avaliar o desempenho diagnóstico de ni-PGT para aneuploidia (niPGT-A), comparando os resultados de biópsias de trofoectoderma (TE) e respectivos SCM de embriões cultivados individualmente via Sequenciamento de Nova Geração (NGS).	Estudo experimental prospectivo de acurácia diagnóstica in vitro	Foram analisados 40 embriões frescos de 13 pacientes inférteis submetidas ao PGT-A. TE e SCM de blastocistos foram coletados e analisados.	Uma boa concordância entre as análises de TE e SCM foi encontrada, sugerindo que o niPGT-A pode ser uma alternativa confiável para a avaliação de anormalidades cromossômicas em embriões cultivados in vitro.
Cai <i>et al.</i> (2022)	Avaliar se o uso de embriões mosaico transferidos (selecionados principalmente pela avaliação da morfologia embrionária - EMA) e comparados pelo teste genético pré-implantação não invasivo para aneuploidia (niPGT-A) em DNA livre de células	Estudo pré-clínico	215 pacientes que passaram por FIV. Não detalha o número específico de embriões	Embriões transferidos selecionados por EMA apresentaram taxas de implantação mais elevadas. O niPGT-A do BF forneceu informações valiosas sobre o status genético ("ploide"), o que ajudou a reduzir a falha de implantação induzida por aneuploidia e o aborto espontâneo, aumentando assim as taxas de CP e HLB. Além disso, a maioria dos embriões transferidos com mosaico aneuploidia complexo/caótico provavelmente desenvolveria HLB.

	no fluido blastocelular (BF) aumenta as taxas de gestações clínicas (CPs) e nascimentos vivos saudáveis (HLBs) e investigar se o niPGT-A poderia fornecer informações genéticas valiosas para os embriões mosaico transferidos selecionados pela EMA.			
Kang <i>et al.</i> (2024)	Explorar o efeito de diferentes números de lavagens de embriões antes da formação do blastocisto na triagem cromossômica pré-implantação não invasiva (NICS) na precisão dos resultados da NICS.	Estudo experimental in vitro prospectivo controlado	68 blastocistos (12 casais) de gestação assistida por teste genético pré-implantação (PGT)	O teste NICS apresentou resultados favoráveis após dez lavagens dos embriões. Esses achados fornecem um novo método para reduzir a quantidade de contaminação por DNA livre de células de fontes não embrionárias no meio utilizado para o desenvolvimento embrionário, otimizando o procedimento de amostragem e melhorando a precisão do teste NICS.
Takeuchi <i>et al.</i> (2024)	Verificar a taxa de concordância dos resultados da análise de cariótipo entre WE, SCM e TE de blastocistos descongelados, investigando os	Estudo experimental in vitro prospectivo controlado	Utilizou-se 35 blastocistos descartados após a conclusão de tratamento de fertilização in vitro.	O niPGT-A requer pelo menos 24 h de cultura (tempo ideal de cultura para niPGT-A). Foi descoberto que o niPGT-A apresentou uma taxa de concordância maior do que as biópsias de TE quando coletadas no dia 6 e que as culturas de 24 h apresentaram o maior número de contrações. O ZP foi considerado necessário para a cultura de SCM. Além disso, no niPGT-A usando SCMs após 24 h de cultura com d4-BL2s, a taxa de concordância para SCMs foi menor do que para TE. A taxa de concordância para blastocistos iniciais foi baixa, sugerindo que a otimização das condições pode ser necessária.
Sonehara <i>et al.</i> (2022)	Examinar a aneuploidia e a concordância sexual entre o DNA livre de células em meios de cultura usados (SCM) e o DNA do embrião inteiro com relação a diferentes graduações morfológicas para avaliar a viabilidade de testes genéticos pré-implantação não invasivos para aneuploidia (niPGT-A).	Estudo experimental in vitro prospectivo controlado	46 pares de embriões e seus respectivos SCMs doados por 33 pacientes.	A comparação do estado cromossômico entre o SCM e o embrião inteiro demonstrou uma taxa de concordância prática em embriões de baixo e alto grau morfológico. Com uma ligeira melhora na taxa de concordância, o niPGT-A usando SCM pode servir como um método de avaliação ideal, especialmente para embriões de baixo grau morfológico, que não são adequados para biópsia e, caso contrário, são descartados.
Sun <i>et al.</i> (2023)	Estudar a precisão dos resultados da triagem cromossômica não invasiva (NICS) em cromossomos normais e grupos de rearranjo cromossômico e investigar se o uso da biópsia de células trofoblásticas juntamente com a NICS para selecionar embriões para transferência pode melhorar os resultados clínicos da gravidez assistida.	Estudo observacional retrospectivo comparativo	Foram analisados retrospectivamente 101 casais submetidos a testes genéticos pré-implantação, e coletados 492 blastocistos para biópsia de TE. O fluido de cultura de blastocisto D3-5 e o fluido da cavidade do blastocisto foram coletados para o NICS. Entre eles, 278 blastocistos (58 casais) e 214 blastocistos (43 casais) foram incluídos nos grupos de cromossomos normais e	O NICS foi igualmente eficaz na avaliação de populações normais e anormais. A identificação isolada de euploidia e aneuploidia pode levar ao desperdício de embriões devido ao alto índice de falsos positivos. São necessários métodos de relato mais adequados para o NICS e medidas preventivas para um alto número de falsos positivos no NICS. Os resultados sugerem que a combinação dos resultados da biópsia e do NICS pode melhorar os desfechos da gravidez assistida.

			rearranjo cromossômico, respectivamente.	
Bednar ska-Cz erwińska <i>et al.</i> (2024)	Identificar o tipo e o dia de coleta ideais para PGT-A não invasivo ou minimamente invasivo (ni/miPGT-A) em termos de qualidade dos dados e taxas de concordância com biópsias de TE derivadas dos mesmos embriões.	Estudo experimental in vitro prospectivo controlado	239 culturas de embriões. Após otimização utilizando 96 embriões, meios de cultura não invasivos (SCM) e uma combinação minimamente invasiva de fluido de blastocelule e SCM (BF+SCM), juntamente com as amostras de TE correspondentes, foram coletados de 143 embriões cultivados por 5 dias (n = 70) ou 6 dias (n = 73)	Amostras de SCM derivadas de embriões cultivados por 6 dias podem ser aplicadas em niPGT-A com verificação subsequente de amostras aneuplóides usando biópsia de TE.
Sun <i>et al.</i> (2024)	Verificar se a triagem cromossômica não invasiva (NICS) e o teste genético pré-implantação para aneuploidia (TE-PGT) poderiam aumentar as taxas cumulativas de nascidos vivos entre pacientes com idade materna avançada.	Estudo de coorte prospectivo	384 casais com mulheres de 35 a 40 anos de idade.	No geral, em comparação com a avaliação morfológica, tanto a NICS quanto a TE-PGT para triagem cromossômica pré-implantação podem aumentar a taxa cumulativa de nascidos vivos em mulheres de 35 a 40 anos e reduzir a perda cumulativa de gravidez. Não houve diferença significativa nas taxas cumulativas de nascidos vivos entre os grupos NICS e TE-PGT. Esses achados sugerem que a NICS pode ser uma alternativa não invasiva à biópsia por TE para PGT-A no futuro.
Nakhu da <i>et al.</i> (2024)	Investigar o valor preditivo positivo e o risco de falso positivo das variações no número de cópias (CNVs) detectadas no DNA livre de células de meios de cultura usados para embriões não viáveis ou aneuploides.	Ensaio Clínico	120 pacientes	Anormalidades cromossômicas completas foram associadas a um alto valor preditivo positivo e risco relativo significativo para inviabilidade. Embriões associados a outras CNVs apresentaram taxas de implantação sustentada semelhantes às aquelas sem anormalidades detectadas. Mais estudos são necessários para validar a aplicabilidade clínica do niPGT-A.
Handayani <i>et al.</i> (2024)	Avaliar a confiabilidade diagnóstica do niPGT-A baseado na análise de DNA livre de células (cfDNA) presente no meio de cultura embrionário em comparação com os resultados obtidos pela biópsia de trofoectoderma (TE).	Estudo observacional	28 amostras de meio de cultura (SECM) emparelhadas com biópsias de trofoectoderma, coletadas de 21 casais submetidos à FIV com PGT-A	O niPGT-A, baseado na análise de cfDNA no meio de cultura embrionário, apresentou uma taxa de concordância de 85,7% com os resultados obtidos por biópsia de trofoectoderma (TE), sugerindo uma confiabilidade diagnóstica promissora. Além disso, observou-se que fatores como a presença de contaminação por DNA materno e a qualidade embrionária podem influenciar a acurácia do teste. Contudo, embora o niPGT-A ainda enfrente desafios técnicos, especialmente relacionados à padronização e à amplificação do cfDNA, ele representa uma alternativa viável e segura ao método invasivo, com potencial para ser implementado clinicamente em contextos específicos da reprodução assistida.
Ardestani <i>et al.</i> (2024)	Avaliar o impacto do tempo de cultivo pós-descongelamento sobre a qualidade e a taxa de amplificação do DNA livre de células (cfDNA) obtido do meio de cultura de blastocistos criopreservados, com foco na otimização do	Estudo experimental prospectivo	151 blastocistos humanos congelados, que foram cultivados por diferentes períodos (24 h e 48 h) após o descongelamento para coleta do cfDNA.	O cultivo por 48 horas resultou em maior taxa de amplificação de cfDNA (98,4% vs. 85,1%) e melhor qualidade de leitura genômica, com maior taxa de concordância com a biópsia de trofoectoderma. Os autores concluem que a extensão do tempo de cultura pós-descongelamento é uma variável crítica para aumentar a eficiência diagnóstica do niPGT-A em embriões congelados, reforçando a importância da padronização de protocolos nesse tipo de aplicação.

	niPGT-A.			
Lledo <i>et al.</i> (2021)	Avaliar a precisão diagnóstica do teste genético pré-implantacional não invasivo para aneuploidias (niPGT-A), utilizando DNA livre de embriões presente no meio de cultura.	Estudo prospectivo cego	92 biópsias de trofocodermas (TE) e seus respectivos meios de cultura (SCM), avaliados por duas técnicas distintas, totalizando 184 análises cromossômicas. Além disso, foram incluídos 8 controles negativos e 18 biópsias de TE e ICM de embriões aneuploides.	A análise do DNA livre embrionário no meio de cultura usando duas técnicas diferentes, sequenciamento de nova geração (NGS) e hibridização genômica comparativa (aCGH), apresentou resultados consistentes e confiáveis em comparação com a biópsia de trofocodermas (TE). Destaca-se que o teste genético pré-implantacional não invasivo para aneuploidias (niPGT-A) pode ser uma alternativa viável e menos invasiva para a avaliação genética embrionária, embora ainda existam desafios técnicos a serem superados, como a contaminação e a quantidade variável de DNA disponível. Por fim, reforça-se o potencial do niPGT-A para melhorar a segurança e a precisão na seleção embrionária em tratamentos de reprodução assistida.
Kuznyetsov <i>et al.</i> (2020)	Desenvolver e avaliar a viabilidade de um teste genético pré-implantacional minimamente invasivo (miPGT-A), utilizando uma abordagem combinada de DNA livre do meio de cultura embrionário e do fluido do blastocisto, com o intuito de criar um método confiável e clinicamente aplicável para a detecção de aneuploidias embrionárias, sem necessidade de biópsia.	Estudo experimental	54 embriões humanos	A análise combinada do DNA livre presente no meio de cultura embrionário e no fluido do blastocisto (miPGT-A) apresentou alta concordância com os resultados da biópsia de trofocodermas, considerada o padrão ouro para detecção de aneuploidias. Dos 54 embriões analisados, o miPGT-A obteve uma taxa de concordância de aproximadamente 86% com a biópsia invasiva, sugerindo que essa abordagem minimamente invasiva pode ser uma alternativa viável para o diagnóstico genético embrionário. Além disso, há baixa taxa de falha técnica e indicaram que a combinação das duas fontes de cfDNA aumenta a sensibilidade do teste, fortalecendo o potencial clínico do método.
Tong <i>et al.</i> (2022)	Investigar a relação entre o dia de blastulação embrionária (dia 5 ou dia 6) e o status de ploidia (euploidia) do embrião, com o objetivo de orientar a seleção de blastocistos com maior probabilidade de serem euploides utilizando métodos não invasivos (PGT-A por NGS)	Estudo observacional retrospectivo	14.947 blastocistos submetidos ao teste genético pré-implantacional para aneuploidias (PGT-A) com sequenciamento de nova geração (NGS), em ciclos de fertilização <i>in vitro</i> .	A pesquisa incluiu um grande número de embriões submetidos a PGT-A e mostrou que os blastocistos expandidos no dia 5 apresentaram taxas significativamente mais altas de euploidia em comparação aos do dia 6. Os autores concluíram que o tempo de desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto pode estar associado à qualidade cromossômica, sendo o desenvolvimento mais rápido um potencial indicador de competência embrionária.
Vera-Rodríguez <i>et al.</i> (2018)	Investigar a origem e composição do DNA livre de células (cfDNA) presente no meio de cultura (spent culture media) de embriões humanos durante o desenvolvimento pré-implantacional	Estudo experimental	70 amostras de meio de cultura de embriões humanos, obtidas durante o desenvolvimento pré-implantacional em ciclos de fertilização <i>in vitro</i> (FIV).	A maior parte do cfDNA presente no meio de cultivo tem origem no próprio embrião, sendo derivado principalmente de células apoptóticas e de fragmentos celulares liberados durante o cultivo. Observou-se, que apesar da predominância embrionária, há potencial para contaminação materna, especialmente em ciclos com maior manipulação. Os resultados reforçam a viabilidade do uso do cfDNA para testes genéticos não invasivos (como o niPGT-A), mas também alertam para a necessidade de controle rigoroso de contaminações externas.

## 5 Discussão

### 5.1 Acurácia diagnóstica do niPGT-A

Rubio *et al.* (2021) avaliaram o uso do DNA livre de células (cfDNA) no meio de cultura como método não invasivo para a detecção de aneuploidias em blastocistos, encontrando uma alta taxa de concordância entre os resultados do niPGT-A e a biópsia de trophoctoderme (TE), sem especificar um valor percentual exato. Os autores ressaltam que essa técnica apresenta boa precisão diagnóstica e oferece menor risco para a viabilidade embrionária. Esse achado é respaldado por um estudo multicêntrico anterior conduzido pelo mesmo grupo (Rubio *et al.*, 2020), que analisou 1.301 blastocistos provenientes de 406 ciclos de fertilização *in vitro*, encontrando uma taxa de concordância de 78,2%. Esses dados confirmam que o cfDNA no meio de cultura reflete de forma confiável o status cromossômico dos embriões e indicam que o niPGT-A tem potencial para ser uma alternativa viável à biópsia de TE em larga escala clínica.

Huang *et al.* (2019) realizaram um estudo experimental, em que niPGT-A e PGT-A da biópsia do TE foram comparados com os resultados de sequenciamento dos embriões correspondentes. Nesse contexto, a taxa de falsos negativos (FNR) para niPGT-A foi zero. Ao aplicar um limiar apropriado para mosaïcismo, tanto o valor preditivo positivo (VPP) quanto a especificidade para niPGT-A foram muito maiores do que para PGT-A da biópsia por TE, tendo em valores VPP (niPGT-A) de 96,1%, VPN (niPGT-A) de 100%, especificidade de 96,8%, já para a biópsia por TE, é dado VPP de 69%, VPN próximo de 100% e especificidade de 69%. Esses dados concluem, que nesse estudo o niPGT-A foi mais confiável que a biópsia por TE para previsão da ploidia real dos embriões quando comparados ao sequenciamento do embrião inteiro.

Além disso, as taxas de concordância para ploidia embrionária e número de cópias cromossômicas foram maiores para niPGT-A (87,2%; 98,8%) do que para PGT-A da biópsia por TE (85%; 98,3%), ao aplicar um limiar de mosaïcismo de 50%. Esses resultados sugerem que niPGT-A é menos propenso a erros associados ao mosaïcismo embrionário e é mais confiável do que PGT-A da biópsia por TE. Assim, o estudo sustenta a ideia de que o cfDNA em SCM pode ser detectado e usado para determinar a ploidia dos embriões, já que reflete a ploidia tanto do TE quanto do ICM, podendo, inclusive, essa técnica superar a biópsia TE para PGT-A, evitando ainda o trauma associado à biópsia (Huang *et al.*, 2019).

Os resultados do estudo experimental de Sialakouma *et al.* (2021) mostraram que o cfDNA do SCM pôde ser detectado e amplificado a 100%, mas a uma taxa de 82,5%, as amostras de cfDNA foram apropriadas para análise, taxa a qual pode ser ainda mais aumentada por meio de um refinamento adicional das etapas de coleta e amplificação, segundo os autores. Dessa maneira, a pesquisa confirma que o niPGT-A é confiável e preciso e pode ser usado juntamente com o PGT-A invasivo como uma alternativa, especialmente em casos de mosaicismo.

Sonehara *et al.* (2022), examinando a aneuploidia e taxa de concordância entre análise de cfDNA de SCM de embriões pré-implantados e DNA de embriões inteiros com relação a diferentes graduações morfológicas, a fim de avaliar a viabilidade clínica do niPGT-A, demonstrou uma taxa de concordância prática em embriões de baixo (54,5%) e alto grau morfológico (62,5%).

Os dados do estudo de coorte de Xu *et al.* (2023), o qual comparou sistematicamente o desempenho dos testes genéticos de amostras de biópsia de TE, ICM, blastocisto residual (RB) e SCM selecionadas dos mesmos embriões, demonstraram que o niPGT-A do SCM fornece uma avaliação precisa e confiável do estado cromossômico do embrião, embora o desempenho possa não ser superior ao PGT-A da biópsia de TE nas circunstâncias atuais. Evidenciou-se que as causas predominantes de baixa acurácia diagnóstica foram a contaminação por DNA materno e as condições de cultivo do embrião interferindo na detecção e amplificação do cfDNA do SCM.

Por outro lado, apesar desses resultados supracitados, Moustakli *et al.* (2024) e outros autores da literatura atual destacam limitações significativas no niPGT-A, como falhas frequentes na amplificação do DNA, baixa quantidade e qualidade do material genético disponível, além de imprecisões diagnósticas ocasionadas por contaminações e mosaicismo embrionário. Assim, enfatizam que o niPGT-A ainda não atende plenamente aos critérios essenciais para validação clínica, incluindo sensibilidade e especificidade robustas, reprodutibilidade dos resultados e benefício clínico comprovado.

Albornoz *et al.* (2024) também evidenciaram que o niPGT-A atualmente apresenta uma precisão variável em comparação ao método tradicional de biópsia de TE. Estudos (Chen *et al.*, 2021; Ho *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019; Rubio *et al.*, 2020; Shitara *et al.*, 2021;

Sonehara *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2016; Yin *et al.*, 2021) mostram que a sensibilidade e especificidade do niPGT-A podem variar bastante, com valores que vão de 36,8% a 100% para sensibilidade e de 45,5% a 88,9% para especificidade, dependendo do estudo e do padrão de referência utilizado (biópsia de TE ou embrião inteiro), concluindo que, apesar do potencial, as discrepâncias nos resultados indicam que o niPGT-A ainda não pode substituir de forma plena a precisão do método invasivo, devido às possíveis taxas de falso positivo e falso negativo.

Belandres, Shamonki e Arrach (2019), apontaram que as taxas de concordância diagnóstica entre o niPGT-A utilizando cfDNA presente no SCM e o PGT-A convencional variaram amplamente entre 30,4% e 90%, sendo mais comuns entre 50% e 70%. Isso posto, considerou-se que a acurácia diagnóstica do niPGT-A com essa metodologia ainda está em fase de validação, em contraste com o PGT-A tradicional, o qual, embora também apresente limitações, principalmente relacionadas à representatividade do tecido biopsiado, é considerado hoje o padrão ouro e apresenta maior confiabilidade. Um estudo incluído nessa revisão sistemática relatou uma concordância de 100% entre cfDNA de SCM e embriões no estágio de blastocisto, todavia, os autores enfatizam que esses resultados foram obtidos em contextos controlados e de pequenas amostras. Concluiu-se, portanto, que a precisão diagnóstica do niPGT-A necessita de melhorias e validações adicionais, especialmente padronização de protocolos e controle de confusões, como contaminação por DNA materno.

Similarmente, Hanson *et al.* (2021) demonstraram em seu estudo de coorte que o niPGT-A falha na amplificação de DNA em 37,3% dos casos, enquanto a biópsia de TE não mostrou falhas de amplificação, indicando maior confiabilidade diagnóstica dessa última. Além disso, a discrepância entre os resultados do niPGT-A e a biópsia de TE foi de 40,4%, incluindo casos em que o niPGT-A identificou embriões como aneuploides que, na realidade, culminaram em nascimentos vivos saudáveis, demonstrando uma baixa precisão preditiva do método não invasivo. O estudo também evidencia que fatores como a duração da exposição do embrião ao meio de cultivo influenciam a taxa de falhas do niPGT-A, sugerindo que a técnica é altamente sensível às condições de análise, comprometendo sua confiabilidade diagnóstica. Os autores salientam ainda que a "eliminação" de DNA no SCM por embriões é mais prevalente em embriões anormais ou aneuploides, especialmente em estágios iniciais, o que facilita a detecção por niPGT-A. Em contrapartida, embriões euploides apresentam

menor degradação celular e, por isso, liberam menos DNA, dificultando a amplificação e a análise cromossômica precisa nesse tipo de teste. Como resultado, o niPGT-A, na forma atual, tende a superestimar anormalidades e pode levar ao descarte indevido de embriões saudáveis, como evidenciado por casos de embriões classificados como aneuploides que resultaram em nascimentos bem-sucedidos. Além disso, observou-se que o niPGT-A não apresenta uma correlação robusta com os resultados obtidos por TE biópsia padrão, o que torna inadequada a tomada de decisão clínica baseada na sua leitura. Dessa forma, essa coorte evidenciou que a acurácia diagnóstica do niPGT-A, é insuficiente para sua viabilidade clínica atual, dado seu elevado índice de falhas na amplificação, alta taxa de discordância com a análise da biópsia de TE, e sua incapacidade de prever corretamente resultados reprodutivos.

## **5.2 Desafios técnicos do niPGT-A**

Os desafios associados ao estabelecimento de uma técnica não invasiva (niPGT-A), além de confirmar a concordância entre as amostras em comparação com a biópsia TE, residem na origem do DNA analisado e nas mudanças de protocolo necessárias para dar suporte a essa técnica. O DNA coletado usando SCM é fragmentado e normalmente em baixa concentração (aproximadamente 8% do meio de cultivo contém DNA embrionário), além da potencial contaminação, como a mistura de DNA materno na amostra (Cinnioglu *et al.*, 2023).

### **5.2.1 Contaminação do SCM por DNA materno**

A contaminação por DNA materno é frequentemente relatada e pode interferir na análise genética. Handayani *et al.* (2023) indicam que essa contaminação é proveniente principalmente de células do cumulus, e, em menor grau, de corpo polar.

Segundo Vera-Rodríguez *et al.* (2018), a presença significativa de DNA materno SCM compromete a confiabilidade do niPGT-A, pois essa contaminação pode representar até 94% do DNA encontrado, dificultando a distinção entre DNA embrionário e materno, não sendo fonte fidedigna de informações sobre o DNA embrionário e dificultando a detecção precisa de aneuploidias e outras alterações cromossômicas. Outrossim, a contaminação materna

pode levar à falha na amplificação do DNA nas amostras de SCM e de BF, o que, por sua vez, afeta os resultados da NICS (Sun *et al.*, 2023).

### 5.2.2 Contaminação por DNA Exógeno:

Além da contaminação materna, a contaminação por fontes externas pode afetar os resultados. Isso inclui DNA derivado de utensílios plásticos, meios de cultivo (como a albumina sérica humana presente no meio de cultivo do embrião) ou manipulação durante a FIV (Sun *et al.*, 2023). Handayani *et al.* (2023) e Yang *et al.* (2024) acrescentam que a contaminação exógena do meio de cultivo pode surgir da fabricação, de esperma em excesso ou da contaminação ambiental durante o cultivo. Esse aspecto representa um desafio para a confiabilidade do niPGT-A.

### 5.2.3 Possíveis origens cfDNA embrionário

Qin *et al.* (2021) sugere que o cfDNA no meio de cultivo pode se originar de células apoptóticas (morte celular programada) ou necróticas durante o desenvolvimento embrionário. Outra hipótese é que o cfDNA pode vir de processos como a mitose celular. Alguns estudos indicam que o cfDNA pode ser liberado ativamente durante o crescimento embrionário, possivelmente em vesículas extracelulares contendo DNA. Há também a crença de que o cfDNA surge de mecanismos de autocorreção do embrião, onde células anormais (com aneuploidias cromossômicas) geradas durante a divisão celular são "descartadas" pelo embrião. O estudo de Yang *et al.* (2023), analisou todas essas possibilidades e concluiu que a predominância de cfDNA originado de processos celulares de eliminação (como apoptose ou células descartadas por autocorreção) pode dificultar a aplicação da NICS, uma vez que, se o cfDNA reflete principalmente células anormais que o embrião está eliminando, isso pode levar a resultados falso-positivos para aneuploidia ou mosaicismo, fazendo com que embriões potencialmente saudáveis sejam descartados erroneamente.

Há também bastante divergência entre os autores sobre a questão de o cfDNA representar ou não o status cromossômico do embrião. Vera-Rodríguez *et al.* (2018) afirma que a fração mediana de DNA embrionário é de 8%, enquanto Handayani *et al.* (2023) indica que o cfDNA no SCM é principalmente de origem embrionária, , todavia sem porcentagem

numérica exata o que indicaria sua autenticidade para expressar a genética dos embriões em desenvolvimento.

#### **5.2.4 Mosaicismo embrionário**

Os embriões podem apresentar mosaicismo, ou seja, coexistência de células com diferentes constituições cromossômicas. Essa condição pode levar a resultados discordantes entre a biópsia de trofoblasto e o cfDNA, bem como refletir uma composição do DNA que pode não representar toda a variável celular do embrião, o que compromete a precisão do teste não invasivo (Vera-Rodríguez *et al.*, 2018).

#### **5.2.5 Condições de cultivo dos blastocistos para o niPGT-A**

Observou-se, na análise dos estudos, que não há uma padronização das técnicas de cultivo dos embriões para a realização do niPGT-A, o que afeta diretamente a acurácia dos seus resultados, inconsistentes em muitos estudos. Takeuchi *et al.* (2024) sugere que o niPGT-A requer um tempo de cultivo de pelo menos 24 horas para alcançar alta concordância, que a zona pelúcida desempenha um papel importante na acurácia do teste, e que blastocistos precoces (d4-BL2s) ainda necessitam de otimização nas condições de cultivo para garantir resultados confiáveis do niPGT-A. O mesmo estudo também sustenta que o congelamento de embriões antes do niPGT-A e múltiplas lavagens do embrião antes do cultivo para coleta do SCM podem ser úteis para melhorar a acurácia do SCM, reduzindo a contaminação por DNA materno. Além disso, aumento da morte celular durante o processo de descongelamento e o cultivo subsequente pode criar condições mais favoráveis para o niPGT-A em embriões congelados, em comparação com embriões frescos.

O estudo de Kang *et al.* (2024) investigou o impacto do número de lavagens de embriões antes da formação do blastocisto na precisão dos resultados do rastreamento cromossômico pré-implantacional não invasivo (NICS). Os autores concluíram que o NICS produziu resultados favoráveis após dez lavagens dos embriões, visando reduzir a contaminação de cfDNA de fontes não embrionárias no meio de desenvolvimento embrionário, o que pode melhorar a acurácia do teste NICS, permitindo uma avaliação mais precisa do estado cromossômico dos embriões e contribuindo para a seleção de embriões de

alta qualidade, o que pode aumentar a taxa de sucesso da tecnologia de reprodução assistida.

### 5.3 Viabilidade clínica e operacional da implementação prática do niPGT-A

A adoção clínica do niPGT-A tem sido proposta como uma alternativa atraente ao PGT-A convencional com biópsia de trofoectoderma (TE), especialmente devido à sua natureza minimamente invasiva e à possibilidade de evitar os riscos associados à manipulação física do embrião. No entanto, sua viabilidade clínica e operacional ainda encontra importantes obstáculos.

Do ponto de vista técnico, o niPGT-A exige metodologias laboratoriais altamente sensíveis e padronizadas para a extração, amplificação e análise do DNA livre de células (cfDNA) presente no meio de cultivo. A baixa quantidade e integridade do cfDNA coletado, associada à possível origem de células apoptóticas ou degeneradas, levanta dúvidas quanto à representatividade genômica do embrião como um todo (Shitara *et al.*, 2021; Yeung *et al.*, 2019). Conseqüentemente, isso impacta diretamente na confiabilidade diagnóstica, um requisito essencial para sua utilização na seleção embrionária com fins reprodutivos. Ainda que alguns estudos, como o multicêntrico conduzido por Rubio *et al.* (2020) com 1301 blastocistos, tenham relatado taxas de concordância promissoras entre o niPGT-A e a biópsia de TE, a taxa de falha na amplificação do cfDNA e os resultados inconclusivos permanecem significativos e clinicamente limitantes.

Além disso, existem desafios logísticos e operacionais relevantes. A coleta do meio de cultivo exige cuidado extremo para evitar contaminação materna, especialmente quando os ovócitos não são lavados adequadamente antes da fertilização (Rubio *et al.*, 2021). A ausência de protocolos uniformes quanto ao tempo de cultivo, volume e tipo de meio, e condições de armazenamento, contribui para uma falta de padronização internacional, dificultando a comparação de resultados e a replicação de metodologias entre laboratórios (Moustakli *et al.*, 2024; Rubio *et al.*, 2020).

Contudo, apesar do niPGT-A representar uma inovação potencialmente positiva no campo da medicina reprodutiva, sua implementação prática deve ser realizada com cautela,

preferencialmente em contextos de pesquisa ou em protocolos clínicos experimentais. Somente com o avanço de técnicas mais sensíveis, maior padronização interlaboratorial e validação clínica consistente será possível consolidar sua viabilidade como ferramenta substitutiva ao PGT-A convencional.

#### 5.4 Potenciais aplicações futuras do niPGT-A

A crescente evolução do teste genético pré-implantacional não invasivo (niPGT-A) aponta para aplicações futuras que vão além da triagem de aneuploidias, visando uma seleção embrionária mais precisa e segura. Uma revisão recente destaca que estes testes se beneficiam da integração com ferramentas baseadas em inteligência artificial (IA), especialmente sistemas de gradeamento embrionário a partir de imagens com time-lapse, capazes de prever a ploidia com precisão comparável ao niPGT-A, porém com menor custo operacional (Del Collado *et al.*, 2023).

Sun *et al.* (2023) enfatizam a importância de uma remoção e lavagem cuidadosas do complexo cumulus-corona colliculus antes da injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) e novamente na tarde do dia 4, além de lavar e substituir o meio de cultivo na tarde do dia 4, a fim de prevenir a contaminação por DNA materno, questão imprescindível para a aplicação clínica rotineira da NICS.

Além disso, existe um campo promissor na junção do niPGT-A com metodologias ômicas, como transcriptômica, proteômica e metabolômica, para construir um perfil multi-ômico embrionário a partir do meio de cultivo residual, o chamado “embryo-secretome”, que pode enriquecer a interpretação sobre viabilidade e aumentar o potencial de implantação (Garcia-pascual *et al.*, 2023).

Do ponto de vista operacional, a padronização da coleta de cfDNA em dias mais tardios do cultivo (dia 6/7) pode melhorar a quantidade e a qualidade do DNA disponível, aumentando a eficiência diagnóstica (Rubio *et al.*, 2020). Ainda assim, é fundamental que essas metodologias sejam validadas por meio de ensaios clínicos randomizados e controlados, com desfechos definidos, como taxa de implantação e nascimentos vivos, antes de sua adoção rotineira (Kimelman; Pavone, 2021; Moustakli *et al.*, 2024).

Sonehara *et al.* (2022) pontuaram que, com uma ligeira melhora na taxa de concordância, o niPGT-A usando SCM pode se tornar o método de avaliação ideal, especialmente para embriões de baixo grau morfológico, os quais não são adequados para biópsia e, por isso, seriam descartados.

## 5 Considerações finais

Este estudo teve como objetivo analisar criticamente as evidências disponíveis sobre a acurácia e aplicabilidade clínica do niPGT-A em blastocistos humanos, destacando seus avanços, limitações e perspectivas futuras. Para isso, foi conduzida uma revisão sistemática da literatura, com base em critérios pré-definidos de elegibilidade, extração e análise dos dados.

Os estudos incluídos na revisão evidenciam que o niPGT-A apresenta desempenho promissor, sendo uma técnica menos invasiva e com potencial para preservar a integridade embrionária, mas há controvérsias quanto à concordância em relação ao teste realizado a partir da biópsia de TE. Entre as limitações, destacam-se falhas na amplificação do DNA, riscos de contaminação externa, baixa integridade do cfDNA, possibilidade de o material analisado refletir apenas células apoptóticas, baixa padronização metodológica, ausência de validação clínica por meio de ensaios randomizados controlados. Além disso, grande parte da literatura avalia apenas a concordância com a biópsia de trofotoderma, sem analisar desfechos clínicos relevantes. A maioria das evidências vêm de estudos observacionais, retrospectivos ou com amostras limitadas, havendo escassez de ensaios clínicos randomizados. Tais fatores limitam, no momento, a adoção do niPGT-A como substituto confiável do PGT-A convencional na prática clínica e, por isso, seu uso rotineiro deve ser cauteloso, restrito a contextos de pesquisa e protocolos clínicos controlados, até que avanços técnicos e evidências clínicas mais consistentes assegurem sua confiabilidade diagnóstica em comparação com a biópsia tradicional de TE para a seleção de embriões de alta qualidade genética.

Dessa forma, as perspectivas futuras incluem o aprimoramento técnico da coleta e análise do cfDNA, o desenvolvimento de técnicas para a diminuição ou eliminação da contaminação por DNA materno, a melhor compreensão sobre o impacto do mosaïcismo na representação do cfDNA, a padronização dos protocolos laboratoriais e o desenvolvimento de estudos clínicos de maior robustez metodológica. A consolidação dessas etapas será essencial para que o niPGT-A possa ser incorporado de forma segura e eficaz à rotina das clínicas de reprodução assistida.

## REFERÊNCIAS

- ALBORNOZ, E. C. *et al.* Non invasive preimplantation testing for aneuploidies in assisted reproduction: a SWOT analysis. **Reproductive Sciences**, v. 32, p. 1-14, 21 out. 2024. DOI: 10.1007/s43032-024-01698-2. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s43032-024-01698-2>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- ARDESTANI, G. *et al.* Culture time to optimize embryo cell-free DNA analysis for frozen-thawed blastocysts undergoing noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy. **Fertility and Sterility**, v. 122, n. 3, p. 465-473, set. 2024. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2024.04.037. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028224002711?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- BEDNARSKA-CZERWIŃSKA, A. *et al.* Comparison of non-invasive and minimally invasive preimplantation genetic testing for aneuploidy using samples derived from the same embryo culture. **Journal of Clinical Medicine**, v. 14, n. 1, art. 33, 25 dez. 2024. DOI: 10.3390/jcm14010033 Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2077-0383/14/1/33>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- BELANDRES, D.; SHAMONKI, M.; ARRACH, N. Current status of spent embryo media research for preimplantation genetic testing. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 36, n. 5, p. 819-826, 21 mar. 2019. DOI: 10.1007/s10815-019-01437-6. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6541676/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- CAI, L. *et al.* Majority of transferred mosaic embryos developed healthy live births revealed by a preclinical study using embryonic morphology assessment and noninvasive PGT-A on cell-free DNA in blastocoel fluid. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 39, n. 11, p. 2483-2504, 24 nov. 2022. DOI: 10.1007/s10815-022-02651-5. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9723046/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- CAMPBELL, M. *et al.* Synthesis without meta-analysis (SWiM) in systematic reviews: reporting guideline. **British Medical Journal**, v. 368, l. 6890, 16 jan. 2020. DOI: 10.1136/bmj.l6890. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7190266/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- CARVALHO, B. R. Great challenges remain for niPGT-A reliability. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**: Revista da Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia, v. 44, n. 7, p. 721-722, 7 jun. 2022. DOI: 10.1055/s-0042-1744291. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9948063/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- CHEN, J. *et al.* Diagnostic efficiency of blastocyst culture medium in noninvasive preimplantation genetic testing. **F&S Reports**, v. 2, n. 1, p. 88-94, 15 set. 2020. DOI: 10.1016/j.xfre.2020.09.004. Disponível em: <[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666-3341\(20\)30075-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666-3341(20)30075-1)>. Acesso em: 13 ago. 2025.
- CHEN, L. *et al.* A non-invasive chromosome screening strategy for prioritizing in vitro fertilization embryos for implantation. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, e.

708322, 9 ago. 2021. DOI: 10.3389/fcell.2021.708322. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8380813/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

CHOW, J. F. C. *et al.* Optimizing non-invasive preimplantation genetic testing: investigating culture conditions, sample collection, and IVF treatment for improved non-invasive PGT-A results. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 41, n. 2, p. 465-472, 6 jan. 2024.

DOI:10.1007/s10815-023-03015-3. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10894776/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

CIMADOMO, D. *et al.* The dawn of the future: 30 years from the first biopsy of a human embryo: the detailed history of an ongoing revolution. **Human Reproduction Update**, v. 26, n. 4, p. 453-473, 18 jun. 2020. DOI: 10.1093/humupd/dmaa019. Disponível

em:<<https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmaa019>> .

Acesso em: 13 ago. 2025.

CINNIOGLU, C. *et al.* A systematic review of noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy. **Fertility and Sterility**, v. 120, n. 2, p. 235-239, 24 jun. 2023. DOI:

10.1016/j.fertnstert.2023.06.013. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028223006167?via%3Dihub>>.

Acesso em: 13 ago. 2025.

DEL COLLADO, M. *et al.* The embryo non-invasive pre-implantation diagnosis era: how far are we? **Animal Reproduction**, v. 20, n. 2, p. e20230069, 4 set. 2023. DOI:

10.1590/1984-3143-AR2023-0069. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10503888/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

DOKRAS, A. *et al.* Trophectoderm biopsy in human blastocysts. **Human Reproduction (Oxford, England)**, v. 5, n. 7, p. 821-825, out. 1990. DOI:

10.1093/oxfordjournals.humrep.a137191. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2266155/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

FRANCO JR, J. G. *et al.* Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy (niPGT-A): the first brazilian baby. **JBRA Assisted Reproduction**, v. 24, n. 4, p. 517-520, 6 out. 2020. DOI:

10.5935/1518-0557.20200074. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7558898/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

GARCÍA-PASCUAL, A. *et al.* Cell-free DNA analysis in preimplantation genetic testing. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 40, n. 2, p. 341-351, 16, maio. 2023. DOI:

10.1016/j.xfss.2023.01.001. Disponível em:

<[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666-335X\(23\)00007-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666-335X(23)00007-1)>. Acesso em: 13 ago. 2025.

HANDAYANI, N. *et al.* The origin and possible mechanism of embryonic cell-free dna release in spent embryo culture media: a review. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 40, n. 6, p. 1231-1242, 2 maio 2023. DOI: 10.1007/s10815-023-02813-z. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10310623/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

HANDAYANI, N. *et al.* Non-invasive pre-implantation genetic testing's reliability for aneuploidy using cell-free DNA in embryo culture media. **Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction**, v. 53, n. 8, p. 102808, 31 maio 2024. DOI:

10.1016/j.jogoh.2024.102808. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2024.102808>>.

<[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468-7847\(24\)00086-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468-7847(24)00086-2)>. Acesso em: 13 ago. 2025.

HANDYSIDE, A. H. *et al.* Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. **Nature**, v. 344, n. 6268, p. 768-770, 19 abr. 1990. DOI: 10.1038/344768a0. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2330030/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

HANSON, B. M. *et al.* Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy exhibits high rates of deoxyribonucleic acid amplification failure and poor correlation with results obtained using trophoctoderm biopsy. **Fertility and Sterility**, v. 115, n. 6, p. 1461-1470, 19 mar. 2021. DOI: g1016/j.fertnstert.2021.01.028. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028221000509?via%3Dihub>> . Acesso em: 13 ago. 2025.

HO, JR. *et al.* Pushing the limits of detection: investigation of cell-free DNA for aneuploidy screening in embryos. **Fertility and Sterility**, v. 110, n. 3, p. 467-475.e2, ago. 2018. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.03.036. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028218302917>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

HUANG, B. *et al.* Evaluation of non-invasive gene detection in preimplantation embryos: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 40, n. 6, p. 1243-1253, 23 mar. 2023. DOI:10.1007/s10815-023-02760-9. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10310611/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

HUANG, L. *et al.* Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy in spent medium may be more reliable than trophoctoderm biopsy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 28, p. 14105-14112, 24 jun. 2019. DOI: 10.1073/pnas.1907472116. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6628824/>> . Acesso em: 13 ago. 2025.

KANG, X. *et al.* Influence of the number of washings for embryos on non-invasive preimplantation chromosome screening results. **Frontiers in Endocrinology**, v. 15, p. 1363851, 26 mar. 2024. DOI: 10.3389/fendo.2024.1363851. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11002171/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

KIMELMAN, D.; PAVONE, M. E. Non-invasive prenatal testing in the context of IVF and PGT-A. **Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 70, p. 51-62, jan. 2021. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2020.08.007. Disponível em: <[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521-6934\(20\)30111-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521-6934(20)30111-5)>. Acesso em: 13 ago. 2025.

KULMANN, M. I. R. *et al.* First baby born in Brazil after simultaneous diagnosis through non-invasive and conventional PGT-A. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 43, n. 11, p. 878-882, nov. 2021. DOI: 10.1055/s-0041-1736302. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11002147/>> . Acesso em: 13 ago. 2025.

KUZNYETSOV, V. *et al.* Minimally invasive cell-free human embryo aneuploidy testing (miPGT-A) utilizing combined spent embryo culture medium and blastocoel fluid: towards

development of a clinical assay. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 7244, 29 abr. 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-64335-3. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7190856/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

LEAVER, M.; WELLS, D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? **Human Reproduction Update**, v. 26, n. 1, p. 16-42, 1 jan. 2020. DOI: 10.1093/humupd/dmz033. Disponível em: <<https://academic.oup.com/humupd/article/26/1/16/5643748?login=true>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

LI, X. *et al.* Non-invasive preimplantation genetic testing for putative mosaic blastocysts: a pilot study. **Human Reproduction (Oxford, England)**, v. 36, n. 7, p. 2020-2034, 18 jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/deab080>. Disponível em: <<https://academic.oup.com/humrep/article/36/7/2020/6273656?login=true>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

LLEDO, B. *et al.* Consistent results of non-invasive PGT-A of human embryos using two different techniques for chromosomal analysis. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 42, n. 3, p. 555-563, mar. 2021. DOI: 10.1016/j.rbmo.2020.10.021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1472648320306362?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

MOUSTAKLI, E. *et al.* Evolution of minimally invasive and non-invasive preimplantation genetic testing: an overview. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 8, e. 2160, 9 abr. 2024. DOI: 10.3390/jcm13082160. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11050362/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

NAKHUDA, G. *et al.* A pilot study to investigate the clinically predictive values of copy number variations detected by next-generation sequencing of cell-free deoxyribonucleic acid in spent culture media. **Fertility and Sterility**, v. 122, n. 1, p. 42-51, 19 fev. 2024. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2024.02.030. Disponível em: Acesso em: 13 ago. 2025.

NUÑEZ-CALONGE, R. *et al.* Making and selecting the best embryo in vitro fertilization. **Archives of Medical Research**, v. 55, n. 8, e. 103068, 26 ago. 2024. DOI: 10.1016/j.arcmed.2024.103068. Disponível em: <[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188-4409\(24\)00120-6](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188-4409(24)00120-6)>. Acesso em: 13 ago. 2025.

UNIVERSITY OF OXFORD. Nuffield department of primary care health sciences. Centre for evidence-based medicine. **Glossary**. Oxford: University of Oxford, 2025. Disponível em: <<https://www.cebm.ox.ac.uk/resources/ebm-tools/glossary>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

PAGE, M. J. *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **British Medical Journal**, v. 372, n. 71, 29 mar. 2021. DOI: 10.1136/bmj.n71. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8005924/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

RUBIO, C. *et al.* Clinical application of embryo aneuploidy testing by next-generation sequencing. **Biology of Reproduction**, v. 101, n. 6, p. 1083-1090, 24 dez. 2019a. DOI: 10.1093/biolre/ioz019. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/biolreprod/article/101/6/1083/5306439?login=true>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

RUBIO, C. *et al.* Embryonic cell-free DNA versus trophoctoderm biopsy for aneuploidy testing: concordance rate and clinical implications. **Fertility and Sterility**, v. 112, n. 3, p. 510-519, set. 2019b. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.04.038. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028219304170?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

RUBIO, C. *et al.* Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 223, n. 5, p. 751.e1-751.e13, 2020. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.04.035. Disponível em: <[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002-9378\(20\)30520-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002-9378(20)30520-2)>. Acesso em: 13 ago. 2025.

RUBIO, C. *et al.* Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy in spent culture medium as a substitute for trophoctoderm biopsy. **Fertility and Sterility**, v. 115, n. 4, p. 841-849, 17 mar. 2021. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.02.045. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028221001692?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SAKKAS, D. *et al.* The impact of implementing a non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidies (niPGT-A) embryo culture protocol on embryo viability and clinical outcomes. **Human Reproduction (Oxford, England)**, v. 39, n. 9, p. 1952-1959, 26 jul. 2024. DOI: 10.1093/humrep/deae156. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028221001692?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SCOTT JR, R. T. *et al.* Comprehensive chromosome screening is highly predictive of the reproductive potential of human embryos: a prospective, blinded, nonselection study. **Fertility and Sterility**, v. 97, n. 4, p. 870-875, 2 fev. 2012. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.01.104. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22305103/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SCOTT JR, R. T. *et al.* Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. **Fertility and Sterility**, v. 100, n.3, p. 624-630, 15 jun. 2013. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.039. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23773313/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SHITARA, A. *et al.* Cell-free DNA in spent culture medium effectively reflects the chromosomal status of embryos following culturing beyond implantation compared to trophoctoderm biopsy. **Plos One**, v. 16, n. 2, p. e0246438, 11 fev. 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0246438. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7877764/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SIALAKOUMA, A. *et al.* Embryonic cell-free DNA in spent culture medium: a non-invasive tool for aneuploidy screening of the corresponding embryos. **In Vivo**, v. 35, n. 6, p. 3449-3457, 3

nov. 2021. DOI: 10.21873/invivo.12645. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8627731/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SONEHARA, H. *et al.* Aneuploidy and sex concordance rate between cell-free DNA analysis from spent culture media of preimplantation embryo and DNA from whole embryo with respect to different morphological grading. **Reproductive Medicine and Biology**, v. 21, n. 1, p. e12493, 16 dez. 2022. DOI: 10.1002/rmb2.12493. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9756929/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SUN, B. *et al.* Effectiveness of non-invasive chromosomal screening for normal karyotype and chromosomal rearrangements. **Frontiers in Genetics**, v. 14, p. 1036467, 13 mar. 2023. DOI: 10.3389/fgene.2023.1036467. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10040604/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

SUN, Q. *et al.* Efficacy of non-invasive chromosome screening, preimplantation genetic testing for aneuploidy, and morphological grading in selecting embryos of patients with advanced maternal age: a three-armed prospective cohort study. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 24, n. 1, p. 545, 16 ago. 2024. DOI: 10.3389/fgene.2023.1036467. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10040604/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

TAKEUCHI, H. *et al.* Conditions for improved accuracy of noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy: focusing on the zona pellucida and early blastocysts. **Reproductive Medicine and Biology**, v. 23, n. 1, p. e12604, 10 set. 2024. DOI: 10.1002/rmb2.12604.

Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11387587/>> Acesso em: 13 ago. 2025.

TOMIC, M.; BOKAL, E. V.; STIMPFEL, M. Non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidy and the mystery of genetic material: a review article. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 7, p. 3568, 25 mar. 2022. DOI: 10.3390/ijms23073568.

Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8998436/#notes2>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

TONG, J. *et al.* Comparison of day 5 blastocyst with day 6 blastocyst: evidence from ngs-based pgt-a results. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, [S.l.], v. 39, n. 2, p. 369–377, fev. 2022. DOI: 10.1007/s10815-022-02397-0. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1007/s10815-022-02397-0>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

TSAI, N.-C. *et al.* Validation of non-invasive preimplantation genetic screening using a routine ivf laboratory workflow. **Biomedicines**, v. 10, n. 6, p. 1386, 11 jun. 2022. DOI: 10.3390/biomedicines10061386. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9219764/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

VERA-RODRIGUEZ, M. *et al.* Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. **Human Reproduction**, v. 33, n. 4, p. 745–756, 20 fev. 2018. DOI: 10.1093/humrep/dey028. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/humrep/article/33/4/745/4879234?login=true>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

VERLINSKY, Y. *et al.* Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. **Human Reproduction (Oxford, England)**, v. 5, n. 7, p. 826-829, fev. 1990. DOI:

10.1093/oxfordjournals.humrep.a137192. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2266156/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Infertility prevalence estimates: 1990-2021**. Geneva: World Health Organization, 2023. Disponível em:

<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/366700/9789240068315-eng.pdf?sequence=1>.

Acesso em: 13 ago. 2025.

XU, C. L. *et al.* Concordance of PGT for aneuploidies between blastocyst biopsies and spent blastocyst culture medium. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 46, n. 3, p. 483–490, mar. 2023. DOI: 10.1016/j.rbmo.2022.10.001. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1472648322007532?via%3Dihub>>

Acesso em: 13 ago. 2025.

XU, J. *et al.* Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 42, p. 11907-11912, 18 out. 2016. DOI:

10.1073/pnas.1613294113. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27688762/>>.

Acesso em: 13 ago. 2025.

YANG, L. *et al.* SCM is potential resource for non-invasive preimplantation genetic testing based on human embryos single-cell sequencing. **Gene**, v. 882, p. 147647, 18 jul. 2023. DOI: 10.1016/j.gene.2023.147647. Disponível em:

<[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378-1119\(23\)00488-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378-1119(23)00488-2)>. Acesso em: 13 ago.

2025.

YANG, S. *et al.* Current research status and clinical applications of noninvasive preimplantation genetic testing: a review. **Medicine (Baltimore)**, v. 103, n. 40, p. e39964, 4 out. 2024. DOI: 10.1097/MD.0000000000039964. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11460858/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

YEUNG, Q. S. Y. *et al.* A prospective study of non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidies (NiPGT-A) using next-generation sequencing (NGS) on spent culture media (SCM). **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 36, n. 8, p. 1609–1621, 10 jul. 2019. DOI: 10.1007/s10815-019-01517-7. Disponível em:

<<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6707994/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

YIN, B. *et al.* Validação de testes genéticos pré-implantação para aneuploidia (PGT-A) com DNA de meios de cultura usados (SCM): avaliação de concordância e implicação.

**Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 19, art. 41, 2021. DOI:

10.1186/s12958-021-00714-3. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1186/s12958-021-00714-3>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F. *et al.* The international glossary on infertility and fertility care, 2017. **Human Reproduction**, v. 32, n. 9, p. 1786-1801, 2017. DOI:

<https://doi.org/10.1093/humrep/dex234>. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28760517/>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

Zegers-Hochschild F, Crosby JA, Musri C, Petermann-Rocha F, Martinez G, Nakagawa H, Morente C, Roque A, Palma-Govea A. Assisted Reproductive Technologies in Latin America: the Latin American Registry, 2021. JBRA Assisted Reproduction, v. 29, n. 1, p. 167-190, 2025. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11867253/>>. Acesso em: 14 ago. 2025.