

Comparação dos resultados de gravidez nas transferências de blastocistos únicos vitrificados-descongelados no 5º dia versus 6º dia, sem teste genético pré-implantacional

Comparison of pregnancy outcomes in single vitrified-warmed blastocyst transfers on day 5 versus day 6, without preimplantation genetic testing

Comparación de los resultados de embarazo en transferencias de blastocistos únicos vitrificados-descongelados en el día 5 frente al día 6, sin pruebas genéticas preimplantacionales

Recebido: 02/06/2025 | Revisado: 14/06/2025 | Aceitado: 15/06/2025 | Publicado: 18/06/2025

Eduardo Gobo dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0289-3079>

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, Brasil

E-mail: egsantos4@minha.fag.edu.br

Karin Kristina Pereira Smolarek

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4428-2578>

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, Brasil

E-mail: karin@fag.edu.br

Cristiane Gisselda Gobo

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6406-8091>

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil

E-mail: cristianeggobo@hotmail.com

Julia Maria Trevisan

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-0427-0215>

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, Brasil

E-mail: jmtrevisan@minha.fag.edu.br

Gabriela Frigotto Colognese

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-8266-3357>

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, Brasil

E-mail: gfcolognese@minha.fag.edu.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar se os resultados de gravidez diferem entre transferências de blastocistos únicos vitrificados-descongelados no 5º e 6º dia em ciclos de reposição hormonal sem o uso de teste genético pré-implantacional (PGT). Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo entre 2022 e 2023 com 108 transferências, sendo 64 no 5º dia e 44 no 6º dia. Participaram mulheres com menos de 42 anos submetidas à injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), com exclusão de ciclos envolvendo doação de óvulos, múltiplas transferências, preparo endometrial natural ou PGT. Não houve diferenças significativas nas taxas de gravidez (44% vs. 45%, $p = 1$), gravidez clínica (41% vs. 41%, $p = 1$), nascimento vivo (39% vs. 34%, $p = 0,687$) ou aborto (11% vs. 25%, $p = 0,267$). Os resultados sugerem que, em ciclos sem PGT com preparo endometrial controlado, os blastocistos do 6º dia apresentam desfechos clínicos semelhantes aos do 5º dia, o que pode trazer segurança para clínicas e pacientes.

Palavras-chave: Blastocisto; Transferência Embrionária; Vitrificação; Diagnóstico Pré-Implantação; Fertilização in Vitro.

Abstract

This study aimed to evaluate whether pregnancy outcomes differ between single vitrified-warmed blastocyst transfers on days 5 and 6 in hormone replacement therapy cycles without preimplantation genetic testing (PGT). A retrospective cohort study was conducted between 2022 and 2023, involving 108 single blastocyst transfers, 64 on day 5 and 44 on day 6. Participants were women under 42 years old who underwent intracytoplasmic sperm injection (ICSI), excluding cycles involving egg donation, multiple transfers, natural endometrial preparation, or PGT. No significant differences were observed in pregnancy rates (44% vs. 45%, $p = 1$), clinical pregnancy rates (41% vs. 41%, $p = 1$), live birth rates (39% vs. 34%, $p = 0.687$), or miscarriage rates (11% vs. 25%, $p = 0.267$). The results suggest that day-6 blastocysts in cycles without PGT and with controlled endometrial preparation yield clinical outcomes similar to day-5 blastocysts, offering reassurance to clinicians and patients.

Keywords: Blastocyst; Embryo Transfer; Vitrification; Preimplantation Diagnosis; Fertilization in Vitro.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar si los resultados de embarazo difieren entre transferencias de blastocistos únicos vitrificados-descongelados en los días 5 y 6 en ciclos de terapia hormonal sin pruebas genéticas preimplantacionales (PGT). Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo entre 2022 y 2023 con 108 transferencias, 64 en el día 5 y 44 en el día 6. Las participantes fueron mujeres menores de 42 años sometidas a inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), excluyendo ciclos con donación de óvulos, transferencias múltiples, preparación endometrial natural o PGT. No se observaron diferencias significativas en tasas de embarazo (44% vs. 45%, $p = 1$), embarazo clínico (41% vs. 41%, $p = 1$), nacimientos vivos (39% vs. 34%, $p = 0.687$) o aborto (11% vs. 25%, $p = 0.267$). Los resultados sugieren que los blastocistos del día 6 en ciclos sin PGT y con preparación endometrial controlada tienen resultados clínicos similares a los del día 5, lo que brinda tranquilidad a clínicas y pacientes.

Palabras clave: Blastocisto; Transferencia de Embrión; Vitrificación; Diagnóstico Preimplantación; Fertilización in Vitro.

1. Introdução

A infertilidade é uma doença definida pela incapacidade de alcançar uma gravidez bem-sucedida em 12 meses ou mais de relações sexuais desprotegidas apropriadas e programadas, ou por inseminação terapêutica de um doador (Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2013). Como ferramenta para tratar a infertilidade, a fertilização in vitro (FIV) surgiu pela primeira vez em humanos em 1978 com o estudo de Robert G. Edwards e Patrick Steptoe (1978). Muitas análises e avanços foram feitos desde essa tentativa inicial. Hoje em dia, a FIV frequentemente inclui o congelamento e descongelamento de embriões e sua transferência para o útero no estágio de blastocisto.

Na FIV, em geral, transferir o embrião no estágio blastocisto resulta em maiores taxas de gravidez e, ao mesmo tempo, reduz a incidência de gravidez ectópica ou múltipla (Fang *et al.*, 2015; Freeman *et al.*, 2019; Glujovsky *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2014; Kontopoulos *et al.*, 2019; Styer *et al.*, 2008; Sundhararaj *et al.*, 2017). Na maioria dos casos, no 5º dia (D5) – 120 horas – após a coleta dos oócitos, o embrião alcança o estágio de blastocisto, entretanto por conta de uma diferença na taxa de desenvolvimento embrionário, alguns embriões chegam a esse estágio somente no 6º dia (D6) – 144 horas (Bourdon *et al.*, 2019). Múltiplos estudos recentes abordaram a comparação dos resultados entre transferências de embriões congelados e descongelados, mas a comparação dos desfechos entre blastocistos desenvolvidos até D5 ou o D6 ainda é incerta. Alguns estudos demonstraram superioridade do grupo D5 (Bourdon *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2023; Ferreux *et al.*, 2018; Shapiro *et al.*, 2001; Tubbing *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2023), enquanto outros mostram a ausência de diferença entre os desfechos de ambos (Behr *et al.*, 2002; El-Toukhy *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2016).

O objetivo deste estudo foi avaliar se os resultados de gravidez diferem entre transferências de blastocistos únicos vitrificados-descongelados no 5º e 6º dia em ciclos de reposição hormonal sem o uso de teste genético pré-implantacional (PGT). Este estudo avaliou como os desfechos são afetados ao transferir embriões únicos congelados e descongelados no 5º ou 6º dia de desenvolvimento, utilizando o método de vitrificação para o congelamento, reposição hormonal para preparo do endométrio e excluindo o uso do PGT (*preimplantation genetic testing*, ou teste genético pré-implantacional).

2. Metodologia

Realizou-se uma pesquisa laboratorial de natureza quantitativa (Toassi & Petry, 2021; Pereira *et al.*, 2018) e com emprego de estatística descritiva simples com uso de valores de média e desvio padrão (Shitsuka *et al.*, 2014; Akamine & Yamamoto, 2009) e de análise estatística (Vieira, 2021; Bekman & Costa Neto, 2009).

2.1 Seleção da população

Foram retrospectivamente selecionadas participantes que, entre 2022 e 2023, necessitaram de tratamento de reprodução assistida por meio da FIV, utilizaram o método injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), tinham menos de 42 anos

na data em que os embriões foram criopreservados e realizaram transferências de um único blastocisto congelado e descongelado (seja mantido em cultura prolongada após uma transferência a fresco ou originado de um ciclo “*freeze-all*”) transferido no 5º ou 6º dia de desenvolvimento no Gênesis Instituto de Reprodução Humana de Cascavel. Foram excluídos da pesquisa ciclos com transferência simultânea de mais de um blastocisto, ciclos com óvulos heterólogos (doação), preparação endometrial em ciclo natural e embriões que passaram por PGT.

O projeto passou por avaliação de comitê de ética e foi aprovado na plataforma brasil sob CAAE 82171024.3.0000.5219.

2.2 Classificação dos embriões frescos e criopreservação

Os blastocistos frescos gerados por ICSI haviam sido classificados pela equipe do Gênesis Instituto de Reprodução Humana de Cascavel de acordo com o grau de expansão e as características morfológicas da massa celular interna e do trofotoderma, conforme descrito por Gardner e Schoolcraft (1999). Nenhum dos blastocistos havia recebido eclosão assistida antes da criopreservação.

A equipe do instituto realizou a vitrificação dos blastocistos utilizando canudos HSV (Irvine Scientific, CA, EUA) ou dispositivos Cryolock (Biotech, EUA). A solução de equilíbrio (ES) e a solução de vitrificação (VS), ambas contendo etilenoglicol e dimetilsulfóxido (DMSO) (Irvine Scientific, CA, EUA), foram previamente equilibradas à temperatura ambiente (22–27°C) por pelo menos 30 minutos antes do uso.

Seguindo o protocolo da instituição, os blastocistos foram transferidos para a solução ES por 9 minutos. Após o equilíbrio, foram imersos na VS, que contém uma concentração mais alta de etilenoglicol e DMSO, por 20 segundos. Em seguida, passaram por um leve enxágue na VS, foram carregados nos dispositivos de criopreservação e imersos em nitrogênio líquido dentro de 80 segundos.

2.3 Descongelamento

O protocolo de descongelamento utilizado pelo centro para esses participantes consistiu no seguinte: os canudos foram removidos do nitrogênio líquido e rapidamente imersos em uma solução de descongelamento (TS), composta por 1,0 M de sacarose (Irvine Scientific, CA, EUA), a 37°C por 1 minuto. Durante o descongelamento, os blastocistos foram observados sob um estereomicroscópio Nikon SMZ745 (Nikon Instruments Inc., EUA). Em seguida, os blastocistos foram transferidos para uma solução de diluição (DS) contendo 0,5 M de sacarose por 4 minutos. Posteriormente, passaram por lavagens sequenciais nas soluções de lavagem 1 (WS1, 0,25 M de sacarose) e lavagem 2 (WS2, 0,1 M de sacarose) por 4 minutos cada. Por fim, os embriões foram transferidos para um meio de cultura pré-equilibrado, Continuous Single Culture Complete, suplementado com gentamicina e albumina sérica humana (HSA) (Irvine Scientific, CA, EUA), e incubados a 37°C por até 3 horas antes da avaliação final ou transferência.

2.4 Programação e avaliação endometrial

Para preparação endometrial havia sido iniciado a utilização de valerato de estradiol oral (Primogyna, Bayer, Brasil), 2 mg diariamente, no 2º ou 3º dia da menstruação e continuado por 3 dias. A dose foi então aumentada para 4 mg diários por mais 3 dias e, finalmente, para 6 mg diários, que foram mantidos a partir de então até a 12ª semana de gestação caso a gravidez se confirmasse ou tiveram seu uso cessado na confirmação de ausência de gestação (de acordo com o teste de gravidez sérico beta-hCG quantitativo realizado após 9 dias da transferência do embrião). Se a espessura endometrial fosse inferior a 6 mm no 5º dia após o início do uso do valerato de estradiol, aplicava-se 3 mg diários de estradiol hemihidratado transdérmico (Oestrogel, Besins Healthcare, Brasil) por mais 2 ou 3 dias até que a espessura endometrial atingisse, pelo menos, 7 mm com

aparência trilaminar. Se fossem atingidos esses parâmetros endometriais, era administrada uma dose de 250 µg de hCG recombinante (Ovidrel®, Merck, Brasil) ou gonadotrofina coriônica humana urinária (Choriomon®-M, IBSA, Brasil). Os ciclos eram cancelados se a espessura endometrial não atingisse 7 mm após esse período. Cinco dias antes da transferência embrionária, iniciava-se a suplementação com progesterona micronizada (Utrogestan, Besins Healthcare, Brasil), na dose de 200 mg, três vezes ao dia, por via vaginal.

2.5 Transferência do embrião descongelado e suporte hormonal

Apenas um blastocisto foi transferido para o útero no 6º dia de administração de progesterona, utilizando um cateter *CCD Pearl Tip Soft* (CCD Laboratories, Paris, França) ou um cateter *Cook Sydney* (Cook Medical, Bloomington, IN, EUA) sob orientação de ultrassom transabdominal. Após a transferência do embrião, a suplementação hormonal com progesterona e estradiol foi continuada e um teste de gravidez sérico beta-hCG quantitativo foi realizado após 9 dias. Mulheres com teste positivo continuaram com a suplementação hormonal até a 12ª semana de gestação.

2.6 Resultado do ciclo

O desfecho “gravidez bioquímica” foi definido como um teste de gravidez sérico beta-hCG quantitativo acima de 25mIU/ml, 9 dias após a transferência do embrião. Uma gravidez clínica foi definida como a observação de um saco gestacional com pulsações cardíacas fetais no ultrassom 2-3 semanas após o teste de gravidez positivo. A taxa de abortos incluiu tanto abortos bioquímicos quanto clínicos.

2.7 Análise de dados

Os dados foram analisados usando o IBM SPSS Statistics (versão 30.0.0.0; IBM Corp., Armonk, NY, EUA). Os testes estatísticos incluíram os testes exatos de Fisher-Freeman-Halton, teste de Levene para igualdade de variâncias e Testes T para igualdade de médias, com um nível de significância estabelecido em 5% ($p < 0,05$). Para avaliar a associação entre o dia da transferência (Dia 5 vs. Dia 6) e os resultados de gravidez, uma análise de regressão logística foi realizada, ajustando para IMC, idade na criopreservação, número de embriões inicialmente preservados e número descongelado. A significância do modelo foi avaliada usando valores de R-quadrado, testes de ajuste e estatísticas de coeficientes para cada variável independente.

3. Resultados

Durante o período do estudo, todas as transferências de embriões que satisfizeram os critérios de inclusão do estudo foram adicionadas. No total, foram computadas 108 transferências de embriões no estudo, sendo 64 no grupo do 5º dia e 44 no grupo do 6º dia.

O tratamento resultou em 48 gestações, 44 gestações clínicas e 40 nascimentos vivos, com taxas globais de gravidez bioquímica, gravidez clínica e nascimento vivo por transferência de 44%, 40% e 37%, respectivamente. A taxa de aborto no estudo foi de 16% (8/48).

Em relação às características dos pacientes e dos ciclos, não houve diferença significativa em relação à idade média, IMC e número de embriões descongelados, conforme indicado pelo Quadro 1. Observou-se uma diferença significativa no número de embriões inicialmente preservados entre os grupos do 5º e 6º dia ($p = 0,031$).

Quadro 1 - Características dos pacientes e dos ciclos.

Valores apresentados como média $\pm$ desvio padrão.

Variável	Dia 5 (n = 64)	Dia 6 (n = 44)	p
Idade (anos)	33,2 $\pm$ 3,7	34,0 $\pm$ 3,9	0,298
IMC (kg/m ²)	25,5 $\pm$ 3,9	24,7 $\pm$ 4,8	0,358
Nº de embriões inicialmente preservados	2,86 $\pm$ 2,0	2,07 $\pm$ 1,6	0,031
Nº de embriões descongelados	1,02 $\pm$ 0,1	1,02 $\pm$ 0,2	0,797

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

O desfecho dos ciclos de congelamento-descongelamento com transferências de embriões únicos nos grupos de 5º e 6º dia é ilustrado no Quadro 2. Não houve diferença significativa entre os dois grupos em relação à gravidez ($p = 1$), gravidez clínica ($p = 1$), nascidos vivos ($p = 0,687$) e abortos ($p = 0,267$).

Quadro 2 - Desfecho dos ciclos congelamento-descongelamento com transferência de embriões únicos.

Desfecho		Dia 5 (n = 64)	Dia 6 (n = 44)	p
Número de gestações (%)		28 (44)	20 (45)	1
Número de gestações clínicas (%)		26 (41)	18 (41)	1
Número de nascidos vivos (%)		25 (39)	15 (34)	0,687
Número de abortos (%)		3 (11)	5 (25)	0,267

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

3.1 Ajuste para variáveis de confusão

Foi realizada uma análise de regressão logística multivariada para examinar a relação entre o dia de transferência do blastocisto (5º dia vs. 6º dia) e os desfechos de gravidez, levando em conta potenciais fatores de confusão. Este modelo incluiu ajustes para idade na criopreservação, IMC, número de embriões inicialmente preservados e número descongelado para transferência. Após controlar essas variáveis, o dia de transferência não mostrou associação significativa com os desfechos de gravidez. A razão de chances ajustada para alcançar a gravidez com transferências no 6º dia em comparação com o 5º dia foi de 1,10 (IC 95%, 0,49–2,47; $p = 0,811$).

4. Discussão

Este estudo teve como objetivo avaliar os desfechos de gravidez clínica de transferências de blastocistos únicos vitrificados e descongelados do 5º (D5) e 6º (D6) dia em ciclos de reposição hormonal, sem teste genético pré-implantacional (PGT). Os resultados indicaram que não houve diferenças significativas entre as transferências de blastocistos do D5 e D6 em termos de taxas de gravidez, taxas de gravidez clínica ou taxas de nascidos vivos. Este resultado contrasta com estudos anteriores, que frequentemente relatam desfechos superiores para os blastocistos do D5 (Hu *et al.*, 2023).

Uma possível explicação para a ausência de diferenças significativas é a exclusão de PGT do estudo. Muitos trabalhos demonstraram que os blastocistos do D5 tendem a ter taxas mais altas de euploidia, um fator importante que influencia o sucesso da gravidez (Bourdon *et al.*, 2019; Kaing *et al.*, 2018; Yin *et al.*, 2024), ou seja, quando usado, o PGT já pré-seleciona embriões com maior potencial para um desfecho gestacional favorável. Ao não incluir o PGT, eliminamos o impacto do status

cromossômico na seleção dos embriões a serem transferidos, focando unicamente no potencial de desenvolvimento intrínseco dos embriões. Isso pode explicar por que a vantagem esperada dos blastocistos do D5 sobre o D6 não foi observada nos dados colhidos.

O uso de ciclos de reposição hormonal no estudo cria um ambiente endometrial consistente que pode reduzir as diferenças nos desfechos entre as transferências de blastocistos do D5 e D6. Esse ambiente controlado pode permitir resultados de implantação comparáveis, conforme observado por El-Toukhy e colaboradores (2011), que encontraram taxas de gravidez semelhantes entre blastocistos de alta qualidade do D5 e D6 em ciclos congelados programados hormonalmente. Ferreux e colaboradores (2018) também observaram taxas de nascimento vivo mais altas para blastocistos do D5, mas reconheceram que a programação endometrial pode ajudar a mitigar as diferenças relacionadas ao tempo ao garantir um ambiente receptivo tanto para as transferências de D5 quanto de D6. Esses achados sugerem que a reposição hormonal pode reduzir o impacto do momento de desenvolvimento, tornando os blastocistos de D6 opções viáveis em ciclos bem-preparados.

5. Conclusão

Embora a literatura mais ampla sugira uma preferência por transferências de D5 em comparação com D6, os resultados obtidos indicam que, em ciclos sem PGT e com preparação endometrial hormonal, os blastocistos de D6 podem alcançar desfechos clínicos comparáveis aos de D5. Esses resultados oferecem insights valiosos para clínicos que manejam casos em que os blastocistos de D6 são a única opção disponível, sugerindo que eles permanecem uma escolha viável na ausência de PGT. Mais pesquisas com amostras maiores e populações de estudo mais diversificadas são necessárias para confirmar esses resultados e avaliar sua generalização para outras configurações de FIV.

Referências

- Akamine, C. T. & Yamamoto, R. K. (2009). Estudo dirigido: estatística descritiva. (3ed). Editora Érica.
- Behr, B., Gebhardt, J., Lyon, J., & Milki, A. A. (2002). Factors relating to a successful cryopreserved blastocyst transfer program. *Fertility and Sterility*, 77(4), 697–699. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(01\)03267-8](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)03267-8)
- Bourdon, M., Pocate-Cheriet, K., Finet De Bantel, A., Grzegorzczak-Martin, V., Amar Hoffet, A., Arbo, E., Poulain, M., & Santulli, P. (2019). Day 5 versus Day 6 blastocyst transfers: A systematic review and meta-analysis of clinical outcomes. *Human Reproduction*, 34(10), 1948–1964. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez163>
- Chen, C. H., Lee, C. I., Huang, C. C., Chen, H. H., Chang, C. Y., Cheng, E. H., Lin, P. Y., Chen, C. I., Lee, T. H., & Lee, M. S. (2023). Increased incidence of live births in implanted day 5 versus day 6 blastocysts following single embryo transfers with PGT-A. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40052-5>
- Committee of the American Society for Reproductive Medicine, P. (2013). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, 99(1), 63. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.023>
- El-Toukhy, T., Wharf, E., Walavalkar, R., Singh, A., Bolton, V., Khalaf, Y., & Braude, P. (2011). Delayed blastocyst development does not influence the outcome of frozen-thawed transfer cycles. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, 118(13), 1551–1556. <https://doi.org/10.1111/J.1471-0528.2011.03101.X>
- Estrela, C. (2018). Metodologia Científica: Ciência, Ensino, Pesquisa. Editora Artes Médicas.
- Fang, C., Huang, R., Wei, L. N., & Jia, L. (2015). Frozen-thawed day 5 blastocyst transfer is associated with a lower risk of ectopic pregnancy than day 3 transfer and fresh transfer. *Fertility and sterility*, 103(3), 655–661.e3. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2014.11.023>
- Ferreux, L., Bourdon, M., Sallem, A., Santulli, P., Barraud-Lange, V., Le Foll, N., Maignien, C., Chapron, C., De Ziegler, D., Wolf, J. P., & Pocate-Cheriet, K. (2018). Live birth rate following frozen-thawed blastocyst transfer is higher with blastocysts expanded on Day 5 than on Day 6. *Human Reproduction*, 33(3), 390–398. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey004>
- Freeman, M. R., Hinds, M. S., Howard, K. G., Howard, J. M., & Hill, G. A. (2019). Guidance for elective single-embryo transfer should be applied to frozen embryo transfer cycles. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 36(5). <https://doi.org/10.1007/S10815-019-01433-W>

- Gardner, D. K., & Schoolcraft, W. B. (1999). Culture and transfer of human blastocysts. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 11(3), 307–311. <https://doi.org/10.1097/00001703-199906000-00013>
- Glujovsky, D., Farquhar, C., Quinteiro Retamar, A. M., Alvarez Sedo, C. R., & Blake, D. (2016). Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2016(6). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002118.PUB5>
- Hu, J., Zheng, J., Li, J., Shi, H., Wang, H., Zheng, B., Liang, K., Rong, C., & Zhou, L. (2023). D6 high-quality expanded blastocysts and D5 expanded blastocysts have similar pregnancy and perinatal outcomes following single frozen blastocyst transfer. *Frontiers in endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2023.1216910>
- Huang, B., Hu, D., Qian, K., Ai, J., Li, Y., Jin, L., Zhu, G., & Zhang, H. (2014). Is frozen embryo transfer cycle associated with a significantly lower incidence of ectopic pregnancy? An analysis of more than 30,000 cycles. *Fertility and sterility*, 102(5), 1345–1349. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2014.07.1245>
- Kaing, A., Kroener, L. L., Tassin, R., Li, M., Liu, L., Buyalos, R., Hubert, G., & Shamonki, M. (2018). Earlier day of blastocyst development is predictive of embryonic euploidy across all ages: essential data for physician decision-making and counseling patients. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 35(1), 119–125. <https://doi.org/10.1007/S10815-017-1038-8>
- Kontopoulos, G., Simopoulou, M., Zervomanolakis, I., Prokopakis, T., Dimitropoulos, K., Dedoulis, E., Grigorakis, S., Agapitou, K., Nikitos, E., Rapani, A., & Vlahos, N. (2019). Cleavage Stage versus Blastocyst Stage Embryo Transfer in Oocyte Donation Cycles. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 55(6). <https://doi.org/10.3390/MEDICINA55060293>
- O. R. & Costa Neto, P. L. O. (2009). *Análise estatística da decisão*. (2ed). Ed. Edgar Blucher.
- Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [free e-book]. Ed.UAB/NTE/UFSM.
- Shapiro, B. S., Richter, K. S., Harris, D. C., & Daneshmand, S. T. (2001). A comparison of day 5 and day 6 blastocyst transfers. *Fertility and Sterility*, 75(6), 1126–1130. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(01\)01771-X](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)01771-X)
- Shitsuka et al. (2014). *Matemática fundamental para a tecnologia*. São Paulo: Ed. Érica.
- Stephoe, P. C., & Edwards, R. G. (1978). Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet (London, England)*, 2(8085), 366. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(78\)92957-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(78)92957-4)
- Styer, A. K., Wright, D. L., Wolkovich, A. M., Veiga, C., & Toth, T. L. (2008). Single-blastocyst transfer decreases twin gestation without affecting pregnancy outcome. *Fertility and Sterility*, 89(6), 1702–1708. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.05.036>
- Sundhararaj, U., Madne, M., Biliangady, R., Gurunath, S., Swamy, A., & Gopal, I. (2017). Single Blastocyst Transfer: The Key to Reduce Multiple Pregnancy Rates Without Compromising the Live Birth Rate. *Journal of human reproductive sciences*, 10(3), 201–207. https://doi.org/10.4103/JHRS.JHRS_130_16
- Toassi, R. F. C. & Petry, P. C. (2021). *Metodologia científica aplicada à área da Saúde*. (2ed). Editora da UFRGS.
- Tubbing, A., Shaw-Jackson, C., Ameye, L., Colin, J., Rozenberg, S., & Autin, C. (2018). Increased live births after day 5 versus day 6 transfers of vitrified-warmed blastocysts. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35(3), 417–424. <https://doi.org/10.1007/S10815-017-1097-X>
- Vieira, S. (2021). *Introdução à bioestatística*. Ed.GEN/Guanabara Koogan. Bekman,
- Yang, H., Yang, Q., Dai, S., Li, G., Jin, H., Yao, G., & Sun, Y. (2016). Comparison of differences in development potentials between frozen-thawed D5 and D6 blastocysts and their relationship with pregnancy outcomes. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 33(7), 865–872. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0712-6>
- Yin, B., Li, S., Sun, L., Yao, Z., Cui, Y., Zhang, C., & Zhang, Y. (2024). Comparing Day 5 versus Day 6 euploid blastocyst in frozen embryo transfer and developing a predictive model for optimizing outcomes: a retrospective cohort study. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1302194. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1302194>
- Yu, Q., He, H., Ren, X. ling, Hu, S. fu, & Jin, L. (2023). Pregnancy Outcomes for Day 5 Versus Day 6 Single Frozen-thawed Blastocyst Transfer with Different Qualities of Embryos: A Large Matched-cohort Study. *Current Medical Science*, 43(2), 297–303. <https://doi.org/10.1007/s11596-023-2699-4>