

# ISUOG Guías Prácticas: procedimientos invasivos para diagnóstico prenatal

Traducido por: Mauricio Herrera – Mauricio Gómez (Colombia) ( En Nombre MFM Group)

Revisado: Dr. Mauricio Herrera

## Comité de Estándares Clínicos

La Sociedad Internacional de ultrasonido en obstetricia y ginecología (ISUOG) es una organización científica que promueve la práctica clínica del ultrasonido, la enseñanza de alta calidad y la investigación relacionada al diagnóstico por imágenes en el cuidado de la salud de la mujer. El comité de estándares clínicos (CSC Clinical Standards Committee) tiene la misión de desarrollar guías prácticas y declaraciones de consenso que provean a los profesionales de la salud un abordaje basado en consensos. Estas publicaciones están destinadas a reflejar lo que ISUOG considera como la mejor práctica en el momento en que se emiten. Aunque ISUOG ha hecho todos los esfuerzos para asegurar que las guías son exactas al momento de la publicación, ni la sociedad, ni ninguno de sus empleados o miembros acepta responsabilidad alguna por las consecuencias de algún dato inexacto o dudoso, opiniones o declaraciones emitidas por el comité. Los documentos del comité de estándares clínicos de ISUOG no intenta establecer un estándar legal de cuidado dado que la interpretación de la evidencia señalada en las guías puede estar influenciada por las circunstancias individuales, protocolos locales y recursos disponibles. Las guías aprobadas pueden ser distribuidas libremente con el permiso de ISUOG ([info@isuog.org](mailto:info@isuog.org)).

## INTRODUCCIÓN

El objetivo de este documento es describir los principales aspectos de los procedimientos fetales invasivos para diagnóstico prenatal. Aspectos técnicos, indicaciones clínicas, capacidades diagnósticas y posibles complicaciones son consideradas bajo la luz de la literatura disponible. En esta nueva era dominada por pruebas de DNA fetal libre (cffDNA – siglas en inglés), el número de procedimientos invasivos para estudio fetal ha disminuido dramáticamente y esto tiene un impacto considerable en la práctica clínica.

Esta guía resume la información actual sobre cuando, como y porqué realizar procedimientos invasivos para diagnóstico prenatal. Detalles sobre los grados de recomendación y niveles de evidencia usados se encuentran en el Apéndice 1.

## 1. AMNIOCENTESIS

- La amniocentesis debe ser realizada a las 15+0 o más semanas completas de edad gestacional (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: A**).
- Una aguja 20-22 G debería insertarse transabdominalmente bajo guía ecográfica continua (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: B**).
- La entrada de la aguja a través de la inserción del cordón en la placenta deber evitarse y, si es técnicamente posible, es preferible evitar la placenta especialmente en mujeres con grupo sanguíneo Rhesus(Rh) negativo. (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: C**).
- La frecuencia de contaminación con células maternas incrementa con la presencia de líquido amniótico sanguinolento y con la baja experiencia del operador. Para minimizar la contaminación con células maternas, los primeros 2 ml de líquido deben ser desechados. (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: C**).

La amniocentesis se refiere a la aspiración transabdominal de líquido amniótico desde la cavidad uterina. Este procedimiento se ha realizado desde 1970<sup>1</sup>.

### Técnica

Una aguja 20-22-G debe insertarse transabdominalmente y bajo visión ecográfica continua<sup>2-5</sup>. Se sugiere un ingreso firme para prevenir el abombamiento de las membranas amnióticas<sup>3</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1-**). Un pequeño (n=200) ensayo controlado aleatorizado (ECA) comparan agujas 20-G y 22-G para amniocentesis mostró que las tasas de sangrado intrauterino fueron similares (4/100 vs 8/100), pero el uso de mayor calibre (20-G) se asoció con obtención de líquido más rápido<sup>6</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Un estudio retrospectivo (n=793) reportó similares tasas de pérdida fetal con agujas 20-G (1,57%), 21-G (1,47%) y 22-G (1,61%)<sup>7</sup>.

El impacto del paso transplacentario de la aguja ha sido estudiado en cohortes retrospectivas. Las tasas de pérdida fetal fueron similares usando el abordaje transplacentario y transmembrana, pero el paso transplacentario se asoció con incremento de muestras sanguinolentas<sup>11</sup>. Sin embargo, se recomienda de manera rutinaria evitar la entrada de la aguja a través de la inserción del cordón en la placenta y, si es

técnicamente posible, es preferible evitar la placenta (especialmente en mujeres con grupo sanguíneo Rhesus(Rh) negativo)<sup>2-7,12</sup> **(NIVEL DE EVIDENCIA: 1+)**.

Una vez la aguja ha alcanzado la cavidad amniótica, el estilete interno es removido de la aguja y se aspiran 15-30 ml (dependiendo de la indicación) de líquido. La aspiración puede ser realizada por el operador, por un asistente o utilizando un dispositivo de succión<sup>3,13</sup>.

Es posible detectar células maternas en muestras de líquido amniótico, los reportes más antiguos informan que una de cada dos muestras puede contener más del 20% de células maternas, esta proporción puede llegar al 50% en aquellas muestras sanguinolentas<sup>14</sup>. En un estudio retrospectivo de 150 muestras, los factores asociados con altas tasas de contaminación fueron el paso placentario (6.0% vs 1.0%), dos pasos (27,5% vs 2.0%) y la inexperiencia del operador<sup>15</sup>. La frecuencia de contaminación con células maternas ha sido reportada en niveles inferiores (0.35%) en series más recientes con 6332 muestras<sup>16</sup>. Para disminuir la contaminación con células maternas, es recomendable que los primeros 2 ml de líquido obtenido sean descartados<sup>17</sup> **(NIVEL DE EVIDENCIA: 2+)**.

#### **Momento para la Amniocentesis**

La seguridad y la confiabilidad diagnóstica de la amniocentesis temprana (<14+0 semanas) vs la de segundo trimestre (>15+0 semanas) fue estudiada en ECA en los 90s. Aunque un ensayo más pequeño (n=695) indicó tasas similares de pérdida de la gestación (7.8% vs 7.4%) y de defectos fetales congénitos (2.4% vs 2.6%)<sup>18,19</sup>, un ECA multicéntrico mucho más grande (n=4374) mostró que la amniocentesis temprana (11+0 a 12+6) se asoció con una tasa significativamente más alta de pérdidas fetales (7.6% vs 5.9%), talipes fetal (1.3% vs 0.1%) y salida de líquido amniótico (amniorrea) post-procedimiento (3.5% vs 1.7%), comparado con la amniocentesis de segundo trimestre (15+0 a 16+6 semanas)<sup>20,21</sup>. Esto puede deberse a la presencia de celoma extraembrionario en el primer trimestre o a la reducida cantidad de líquido amniótico en la cavidad. Como resultado de estos hallazgos, los cuerpos profesionales y científicos recomiendan de manera rutinaria que la amniocentesis debe ser realizada desde las 15+0 semanas de edad gestacional en adelante<sup>2,17,22</sup> **(NIVEL DE EVIDENCIA: 1+)**.

#### **Aspectos de Laboratorio**

El fallo en el cultivo de amniocitos se ha reportado en el 0,1% de los procedimientos. Muestras sanguinolentas de líquido amniótico y la edad gestacional tardía incrementan el riesgo del fallo en el cultivo<sup>17</sup>. El Mosaicismo de las células amnióticas se ha visto en 0,25% de los procedimientos<sup>17</sup>. En esos casos, se recomienda la consejería genética y, dependiendo de los resultados, podría indicarse la muestra de sangre fetal (FBS del inglés fetal blood sampling) para descartar un verdadero mosaicismo fetal<sup>17</sup>. El riesgo de

fallo en el cultivo también incrementa con la edad gestacional avanzada. Un estudio retrospectivo de amniocentesis luego de la semana 28 de gestación reportó una tasa de cultivo fallido del 9,7%<sup>23</sup> **(NIVEL DE EVIDENCIA: 2++)**.

#### **Complicaciones**

- Para mujeres llevadas a amniocentesis, el riesgo adicional de pérdida fetal en comparación con los controles ha sido reportado ente 0.1% a 1% y los reportes más recientes se acercan al límite inferior **(GRADO DE RECOMENDACIÓN: B)**.
- El riesgo de ruptura de membranas es del 1 a 2% y el pronóstico es mejor que en aquellos casos con ruptura espontánea de membranas pretérmino **(GRADO DE RECOMENDACIÓN: B)**.
- La injuria fetal o la complicación materna grave son eventos raros **(GRADO DE RECOMENDACIÓN: D)**.
- La experiencia y familiaridad con la amniocentesis puede disminuir el riesgo de pérdida fetal asociada al procedimiento. Punciones múltiples, el líquido amniótico sanguinolento y la presencia de anomalías fetales puede incrementar el riesgo de pérdida fetal. El efecto de otros factores de riesgo es menos consistente **(GRADO DE RECOMENDACIÓN: C)**.

#### *Pérdida Fetal*

La mayoría de datos de tasas de pérdida fetal luego de amniocentesis son derivados de estudios observacionales. Hay solo un ECA, el Danés de 1986, en el cual 4606 mujeres embarazadas de bajo riesgo fueron aleatorizadas a amniocentesis o manejo expectante. La tasa de pérdida fetal fue de 1.7% en el grupo de amniocentesis vs 0.7% en el grupo de control, alcanzando un 1.0% neto de riesgo relacionado al procedimiento<sup>12</sup> **(NIVEL DE EVIDENCIA: 1+)**. Muchos estudios observacionales posteriores reportaron riesgos más altos, un metanálisis reciente calculó que el riesgo ponderado agrupado de pérdida gestacional relacionado con amniocentesis es de 0.11% (IC95%-0.04 a 0.26%)<sup>24</sup> **(NIVEL DE EVIDENCIA: 2++)**. Una revisión de Dinamarca de 147987 procedimientos invasivos, publicada en 2016, reportó una tasa de pérdida gestacional de 0.56% a los 28 días y un riesgo de óbito de 0.09% a los 42 días luego de la amniocentesis **(NIVEL DE EVIDENCIA: 2++)**.

#### *Escape de líquido amniótico*

El riesgo de escape de líquido amniótico es mayor en amniocentesis luego de las 24 semanas de gestación. Su ocurrencia se ha reportado que varía entre 1 a 2%<sup>17,19,26</sup>. Sin embargo, en mujeres con escape de líquido amniótico posterior a amniocentesis, el sellamiento espontáneo de las membranas ocurre frecuentemente y, comparado con casos de ruptura espontánea de membranas en la misma edad

gestacional, el riesgo de pérdida perinatal es sustancialmente menor<sup>27</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

#### *Corioamnionitis*

El riesgo de corioamnionitis e infección uterina luego de amniocentesis genética es bajo (<0.1%)<sup>17</sup>.

#### *Injuria Fetal por Aguja*

La ocurrencia de injuria fetal por la aguja es extremadamente rara<sup>17</sup>. Injurias esporádicas se han reportado en antiguos casos reportados, particularmente en aquellos de procedimientos no guiados, e incluyen trauma ocular<sup>28</sup>, injurias cutáneas (hoyos y cicatrices en la piel)<sup>29,30</sup>, trauma tendinoso<sup>29</sup>, trauma en vasos fetales<sup>31</sup> y daño cerebral (incluyendo porencefalia)<sup>32,33</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 3**).

#### *Complicaciones maternas*

Complicaciones maternas severas en relación con la amniocentesis, incluyendo sepsis o incluso muerte, han sido reportadas en un pequeño número de casos<sup>34-38</sup>. Esos eventos pueden ser causados por la punción inadvertida del intestino. Adicionalmente, microorganismos pueden colonizar el gel de ultrasonido y las sondas suponiendo un riesgo de infección materna<sup>2</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 3**).

#### *Factores de riesgo para complicaciones*

Las tasas más bajas de pérdida fetal se han documentado si se realizan más de 100 procedimientos por año<sup>2</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Un mayor número de intentos (tres o más punciones) incrementa el riesgo de pérdida fetal. Si más de dos punciones son necesarias, se sugiere posponer el procedimiento 24 horas<sup>3,22</sup>.

La presencia de anomalía fetal estructural se ha asociado en sí misma a un riesgo de aborto más alto, y este riesgo se incrementa posterior a la amniocentesis<sup>22</sup>. Una muestra sanguinolenta o coloreada (i.e. pardusco) puede reflejar sangrado intra-amniótico y se ha reportado consistentemente como indicador de un mayor riesgo de pérdida fetal post-procedimiento. Esto parece deberse a la asociación de sangrado intra-amniótico con desórdenes placentarios de base<sup>22,39</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). La opinión de expertos sugiere que las competencias del operador deben ser revisadas cuando las tasas de aborto exceden 4/100 en amniocentesis consecutivas<sup>2,40</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**).

Se han sugerido muchos factores de riesgo asociados al incremento del riesgo de pérdida fetal posterior a la amniocentesis, aunque su asociación no ha sido probada consistentemente. Los factores de riesgo plausibles que se incluyen en este grupo son<sup>22,41,42</sup>: miomas uterinos, malformaciones müllerianas; separación corioamniótica, hematoma retrocoriónico, sangrado materno previo o actual, índice de masa corporal >40Kg/m<sup>2</sup>; multiparidad (> 3 partos), infección

vaginal manifiesta, historia de tres o más pérdidas (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+/2-**).

## **2. BIOPSIA DE VELLOSIDAD CORIAL (BVC)**

- La Biopsia de vellosidad corial (BVC) debería ser realizada luego de las 10+0 semanas de gestación (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: A**).
- BVC puede ser realizada transabdominalmente o transcervicalmente, de acuerdo a la experiencia del operador, preferencia o localización placentaria.
- No hay ECAs que reporten tasas de pérdida fetal luego de BVC comparado con la no realización de BVC, pero ensayos observacionales indican que puede ser baja, en un rango entre 0,2 a 2% (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: B**).
- El riesgo de aborto luego de BVC parece disminuir con el incremento en la experiencia. Repetidas punciones con la aguja y edad gestacional <10 semanas incrementa el riesgo de pérdida fetal (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: B**).

La BVC es la obtención de células trofoblásticas de la placenta. Este procedimiento fue descrito por primera vez en China a mediados de los 70s<sup>43</sup> y se introdujo en la práctica clínica a inicios de los 80s<sup>44</sup>.

### **Técnica**

La aguja debería ser insertada en la placenta bajo guía ecográfica continua. Generalmente, esto es logrado ya sea con la técnica de manos libres o usando un adaptador de biopsia. Dado la falta de datos que comparen estos dos métodos en cuanto a seguridad y eficiencia, la elección debería ser hecha de acuerdo a la experiencia del operador o a las preferencias<sup>2,45</sup>.

El acceso a la placenta puede ser transabdominal o transcervical. Un ECA en 3873 mujeres con embarazo simple (rango de edad gestacional, 7-12 semanas, pero mayor > 10 semanas) mostró que las tasas de pérdida fetal (2.3% vs 2.5%) y de obtención exitosa de la muestra (95% vs 94%) fueron similares entre ambos métodos<sup>46</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1+**).

*Aproximación transabdominal*, anestesia local puede ser usada para BVC transabdominal<sup>2</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**). Una aguja simple de 17-20G o un set de dos agujas con externa 17/19G e interna 19/20G puede ser usado<sup>47</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1-**). Una vez la aguja ha alcanzado el objetivo en la placenta, se realizan entre uno y 10 movimientos adelante y atrás, mientras se mantiene succión para obtener la muestra ya sea aspirada manualmente por el asistente o por el adaptador de succión<sup>3,45,48</sup>.

*Aproximación transcervical*, los fórceps de biopsia son insertados transvaginalmente a través del canal cervical hasta el área trofoblástica, o un catéter con estilete metálico o plástico bajo aspiración por jeringa puede ser utilizado<sup>3</sup>. Un ECA de 200 mujeres llevadas a BVC entre las 10+0 y las 12+6 semanas reportó que la

efectividad y el trauma placentario son similares entre la biopsia usando fórceps y las técnicas de catéter (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1-**); sin embargo, el primer método fue preferido por operadores y pacientes<sup>49</sup>.

La cantidad de vellosidades obtenida en la muestra debe ser chequeada visualmente. Un monto mínimo de 5 mg de vellosidad en cada muestra es requerido para obtener resultados válidos<sup>3</sup>. El fallo en la obtención de la muestra se reporta en el 2.5-4.8% de los procedimientos<sup>2,45</sup>.

#### **Momento para la BVC**

La BVC no debería realizarse antes de las 10+0 semanas completas de gestación, dado el alto riesgo de pérdida fetal y complicaciones antes de este tiempo<sup>2,17</sup>. Reportes de inicio de los 90s mostraron un incremento en la incidencia de la reducción de las extremidades, hipoplasia oro-mandibular en fetos llevados antes de las 10 semanas de gestación, comparados con la población general. Aún hay evidencia insuficiente para refutar o confirmar causalidad con firmeza. Las extremidades y la mandíbula han mostrado ser más susceptibles a la disrupción vascular antes de las 10 semanas<sup>3,50,51</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 3**).

#### **Aspectos de Laboratorio**

El fallo del cultivo del citotrofoblasto se ha reportado que ocurre en menos del 0.5% de los procedimientos en los cuales se obtiene al menos 5 mg de vellosidad corial<sup>49</sup>. En algunos de esos casos, ocurre la contaminación con células de decidua materna, esto puede reducirse mediante la separación de las células deciduales y restos de sangre de la vellosidad corial bajo la disección microscópica al momento posterior de haber obtenido la muestra<sup>52</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2-**). El mosaicismo de células placentarias se ha visto en el 1% de los procedimientos<sup>17</sup>. En esos casos, se recomienda la consejería genética y puede indicarse la amniocentesis para diferenciar un verdadero mosaicismo fetal de un mosaicismo confinado a la placenta<sup>17</sup>.

#### **Complicaciones**

##### *Pérdida Fetal*

No hay evidencia disponible proveniente de ECAs comparando BVC vs no realizar el estudio, por tanto, la totalidad de la evidencia obtenida sobre la pérdida gestacional relacionada con el procedimiento proviene de estudios de cohortes retrospectivas.

Para mujeres llevadas a BVC, el riesgo adicional de pérdida fetal en comparación con los controles se ha reportado que varía entre 0.2% y 2%<sup>2,24</sup>. Este riesgo parece ser más bajo en centros experimentados y disminuye con el incremento de la experiencia, rangos entre 1/150 y 1/500<sup>2,53</sup>. Un estudio retrospectivo del registro Danés, de 31355 casos llevados a BVC, reportaron una tasa total de pérdida fetal de 1.9%

posterior a BVC (vs 1.4% posterior a amniocentesis); la tasa de aborto se correlacionó inversamente con el número de procedimientos realizados en un departamento y fue 40% más alta en aquellos que realizaron menos de 1500 procedimientos, comparado con aquellos que hicieron más de 1500 procedimientos, anualmente<sup>40</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). Una actualización en 2016 de la misma base de datos reportó que prácticamente no hay impacto de BVC en la tasa de pérdida fetal (riesgo de aborto, 0.21% a los 21 días de BVC)<sup>25</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Este resultado es similar a lo encontrado en un estudio retrospectivo grande que comparó la tasa de aborto en 5243 mujeres llevadas a BVC (2.7%) con 4917 controles (3.3%)<sup>54</sup>. De acuerdo a un metanálisis reciente la tasa de pérdida fetal posterior a BVC no parece incrementarse significativamente en comparación con la población no expuesta (riesgo agrupado < 24 semanas, 0,22% (IC95% 0,71 a 1,16))<sup>24</sup>, esta estimación no incluye el reporte Danés de 2016<sup>25</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

La tasa de pérdida fetal posterior a BVC transcervical fue reportada de 2.5% en una serie retrospectiva de 1251 procedimientos<sup>55</sup>, y muy similares tasas de aborto (2.5% vs 2.3%) fueron reportadas en un ECA grande comparando BVC transcervical con BVC transabdominal<sup>46</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1+**). Un estudio aleatorizado comparó BVC con la amniocentesis de segundo trimestre y no encontró diferencias significativas en el total de pérdidas gestacionales entre los dos procedimientos (6.3% vs 7%; riesgo relativo (RR), 0.90 (IC95%, 0.66-1.23))<sup>56</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1-**). Sin embargo, un metanálisis de cuatro ensayos aleatorizados mostró que, comparado con la amniocentesis de segundo trimestre, la BVC transcervical conlleva un riesgo total significativamente mayor de pérdida del embarazo (RR, 1.40 (IC95%, 1.09-1.81)) y de aborto espontáneo (RR, 1.50 (IC95%, 1.07-2.11))<sup>57</sup>.

##### *Sangrado Vaginal*

Se ha reportado que el sangrado vaginal ocurre en el 10% de los casos<sup>52,53</sup>. Su ocurrencia se ha visto más frecuente posterior a la aproximación transcervical que posterior a la transabdominal<sup>52</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2-**).

##### *Complicaciones Poco Comunes*

El riesgo de escape de líquido amniótico posterior a BVC es excesivamente raro, ocurre posterior a <0,5% de los procedimientos<sup>52</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2-**). Cifras claras sobre el riesgo de pérdida gestacional en estos casos son escasas. El riesgo de corioamnionitis e infección uterina luego de BVC es extremadamente bajo (1-2/3000)<sup>52</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2-**). No se han reportado casos de choque séptico o muerte materna posterior a BVC.

### *Asociación con preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino*

Algunos reportes han asociado la BVC con el desarrollo de preeclampsia posteriormente, posiblemente asociado al daño placentario, pero estos hallazgos no han sido consistentes a través de los estudios y un metanálisis falló en demostrar una asociación<sup>8</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Similarmente, un estudio de casos y controles no detectó una asociación entre BVC y alteración en el crecimiento fetal, en el análisis por regresión la más alta incidencia de preeclampsia en el grupo de BVC se debió a factores de confusión maternos y fetales (e.g. Proteína A plasmática asociada al embarazo (PAPP\_A), resistencia aumentada de las arterias uterinas)<sup>59</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**).

### *Factores de riesgo para complicaciones*

Tasas más bajas de pérdida fetal se han documentado si más de 100 procedimientos son realizados por año<sup>2</sup>. La opinión de expertos sugiere que las competencias del operador deberían ser revisadas cuando las tasas de aborto superen 8/100 y las muestras fallidas 5/100 BVC consecutivas<sup>2</sup>.

En un gran estudio retrospectivo, los factores asociados con el incremento del riesgo de aborto posterior a la BVC fueron raza materna afro-americana, al menos dos aspiraciones/punciones con aguja, sangrado abundante durante BVC, edad materna menor de 25 años y edad gestacional < 10 semanas al momento de la BVC<sup>54</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). La presencia de anomalía estructural fetal y el aumento de las translucencia nucal (TN) son asociados con un riesgo basal de aborto más alto<sup>2</sup>. Este riesgo se incrementa posterior a la BVC. Niveles más bajos de PAPP-A en suero materno son también predictores de un riesgo más alto de pérdida fetal posterior a BVC. Esto parece estar relacionado con la asociación de PAPP-A baja y desórdenes placentarios<sup>60</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

Hay un número de factores que pueden plausiblemente incrementar el riesgo de pérdida fetal posterior a BVC, aunque esta asociación no ha sido probada consistentemente. Incluido en este grupo se encuentran<sup>3,22</sup>: miomas; edad materna avanzada, malformaciones uterinas, separación corioamniótica, hematoma retrocorial; sangrado materno previo o actual, útero en retroversión, bradicardia fetal persistente posterior al procedimiento (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2-**).

### **3. MUESTRA DE SANGRE FETAL (MSF)**

- MSF puede ser realizada transabdominalmente luego de la semana 18+0, usando una aguja 20-22-G bajo guía ultrasonográfica.
- Las indicaciones más comunes de MSF son el estudio de mosaicismos cromosómico posterior a amniocentesis y la evaluación hematológica del feto.

- Factores asociados con aumento del riesgo de pérdida fetal posterior a MSF incluyen defectos fetales estructurales (incluyendo hidrops), restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y, posiblemente, edad gestacional < 24 semanas (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: B**).

Hay muchas aproximaciones reportadas para alcanzar la vena umbilical y obtener MSF, incluyendo cordocentesis (en la inserción placentaria del cordón o en asa libre) y la punción de la porción intrahepática de la vena umbilical vía hígado fetal. El término "cordocentesis" se refiere a la punción del cordón umbilical (vena umbilical) guiada por ultrasonido con fines diagnósticos (MSF) o terapéuticos (transfusión intrauterina, paso de medicamentos). La primera serie que describió la experiencia con MSF fue publicada en 1987<sup>61</sup>. La MSF debe realizarse posterior a las 18+0 semanas completas de gestación, dado que el riesgo de pérdida gestacional incrementa si se realiza por debajo de esta edad gestacional<sup>62</sup>.

#### **Técnica**

Una aguja 20-22-G se introduce transabdominalmente bajo guía ultrasonográfica continua y se inserta en la vena umbilical. La técnica a mano libre se usa más comúnmente, aunque el uso de una aguja guía es preferida por algunos. Si la placenta es anterior, se sugiere la punción del cordón a nivel de su inserción placentaria; si la placenta es posterior, se tomará la muestra de un asa libre del cordón o de la porción intra-abdominal de la vena umbilical<sup>62</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**).

Una vez la aguja ha alcanzado el objetivo, instilar con solución salina puede ser útil para confirmar la posición correcta. Debe tener precaución para evitar las arterias umbilicales. La aspiración con jeringa es realizada por un asistente o el operador hasta obtener sangre en la muestra. El origen de la sangre debe ser confirmado por microscopio (analyzer sanguíneo automatizado) para evaluar el volumen corpuscular medio celular, o usar una prueba rápida de acidificación (i.e. Kleihauer Betke o Apt test)<sup>62</sup>.

La vena intrahepática se ha propuesto como un sitio alternativo cuando el acceso al cordón es difícil o la muestra es fallida en la inserción placentaria del cordón<sup>63</sup>. Las ventajas adicionales de la MSF en la vena intrahepática incluyen la ausencia de complicaciones del cordón, reducción del riesgo de pérdida sanguínea fetal y hemorragia feto-materna, y la certeza del origen fetal de la muestra.

#### **Pérdida Fetal**

El riesgo de pérdida fetal posterior a MSF se encuentra entre 1% y 2%<sup>64-66</sup>. En un estudio retrospectivo grande de 1821 mujeres llevadas exitosamente a MSF, el procedimiento se asoció con un riesgo de pérdida fetal de 3.2% vs el 1.8% encontrado en los controles pareados, llevando a una tasa neta de pérdida del 1,4%<sup>64</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

Factores asociados con el incremento del riesgo de pérdida fetal posterior a MSF incluyen anomalías fetales, RCIU y edad gestacional < 24 semanas. Un estudio retrospectivo pequeño encontró una tasa de pérdida fetal del 14% (4/29) en fetos con defectos estructurales y 25 % (9/36) en fetos con hidrops comparado con solo 1% (1/76) en fetos con hallazgos normales en el ultrasonido<sup>65</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). Un estudio retrospectivo similar, pero mucho más grande (n=1878), reportó incremento en las tasas de pérdida fetal en fetos con RCIU severo (8,9%) o anomalías estructurales (13,1%), comparado con 1% en fetos con hallazgos normales en el ultrasonido<sup>66</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). Adicionalmente, una gran serie retrospectiva de 2010 procedimientos indicó que la tasa de pérdida relacionada con MSF puede ser mayor antes de las 24 semanas que posterior a las 24 semanas (2.7% vs 1.9%)<sup>67</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

Este procedimiento deber ser realizado por un operador experimentado. Aunque no hay datos específicos, el riesgo de complicaciones o fallo en la obtención de la muestra se espera que disminuya con el aumento en la experiencia del operador.

#### **4. ELEGIBILIDAD PARA DIAGNÓSTICO PRENATAL INVASIVO**

- La consejería detallada debe preceder cualquier procedimiento invasivo, abarcando los beneficios esperados, los riesgos y aspectos técnicos de la prueba.
- Rutinariamente, las indicaciones válidas para estudio prenatal invasivo incluyen el riesgo elevado de alteración cromosómica, riesgo aumentado para enfermedad genética o metabólica hereditaria y riesgo elevado de alguna infección perinatal.

Previo al procedimiento diagnóstico prenatal, se requiere consejería de la pareja. Esta debe ser realizada por el especialista en obstetricia o en medicina materno fetal que realiza el procedimiento o por el genetista o por una enfermera experta en maternidad (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**). Los siguientes tópicos deberían ser presentados y discutidos<sup>2</sup>: beneficios y riesgos de la prueba invasiva prenatal vs tamizaje<sup>17,22</sup>, diferencias entre BVC y amniocentesis en términos de confiabilidad de los resultados, complicaciones y diferencias en el momento y tipo de terminación del embarazo en caso de resultado anormal<sup>22</sup>; riesgos de pérdida de la gestación nacional y local, confiabilidad y limitaciones de las pruebas de laboratorio particulares que serán realizadas, la tasa de resultados no concluyentes y tiempo de reporte; métodos de comunicación de resultados; indicaciones para buscar consejería médica posterior al procedimiento; la necesidad de inmunización pasiva anti-D en mujeres Rhesus(Rh) negativo y no

inmunizadas<sup>2,22</sup>. Al final de este detallado proceso de información, debe obtenerse la firma del consentimiento<sup>2</sup>.

#### **Indicaciones para amniocentesis o BVC**

Las siguientes son indicaciones rutinarias consideradas válidas para diagnóstico prenatal invasivo por amniocentesis o BVC: Riesgo aumentado de aneuploidía, riesgo aumentado de enfermedad conocida genética o bioquímica en el feto, enfermedad infecciosa materna transmisible y; bajo algunas circunstancias, por solicitud materna.

#### **Riesgo aumentado de aneuploidía (NIVEL DE EVIDENCIA: 4).**

El riesgo aumentado puede ser derivado del tamizaje genético (tamizaje combinado de primer trimestre, prueba DNA fetal libre en sangre materna (cffDNA), test prenatal no invasivo (NIPT), bioquímica del segundo trimestre como triple o cuádruple marcador); hallazgos anormales del ultrasonido (anomalía estructural fetal, comúnmente asociada con alteración cromosómica), historia obstétrica (feto o hijo previo con aneuploidía) o historia familiar (padre portador de translocación cromosómica balanceada o inversión, aneuploidía o mosaicismo para aneuploidía en los padres)<sup>17</sup>.

La edad materna avanzada (>35 años) sin otro factor no debería considerarse una indicación, aunque en algunos países aún es aceptada como criterio aceptado para estudio invasivo<sup>4,17</sup>.

La concepción por técnicas de reproducción asistida no se considera una indicación válida para diagnóstico prenatal invasivo. Sin embargo, en embarazos logrados por medio de inyección espermática intracitoplasmática por oligospermia, los padres deberían ser informados de que hay un riesgo aumentado de alteración cromosómica en el esperma causando infertilidad lo cual puede ser transmitido al recién nacido masculino.

#### **Riesgo incrementado de una enfermedad conocida genética o bioquímica en el feto<sup>17</sup> (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

El riesgo aumentado puede derivar de: una enfermedad hereditaria familiar con una mutación o cambio bioquímico conocido, fetos masculinos y estado portador de la madre de enfermedades ligadas al cromosoma X, ambos padres portadores de un desorden autosómico recesivo.

#### **Enfermedad infecciosa materna transmisible<sup>17</sup> (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

En el caso de infección materna primaria o seroconversión por toxoplasma, citomegalovirus o rubeola, el estudio prenatal invasivo puede estar

indicado para confirmar o excluir transmisión de la infección al feto.

#### **Solicitud materna (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

La solicitud materna como único criterio generalmente no es considerado una indicación válida para diagnóstico prenatal invasivo, pero en circunstancias excepcionales, por ejemplo cuando hay ansiedad aguda en los padres y posterior a una extensa consejería, el especialista en medicina materno fetal puede permitir esto.

#### **Indicaciones para MFS (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

Las indicaciones más comunes para MFS son el estudio de mosaïcismo cromosómico posterior a amniocentesis o la evaluación hematológica del feto (cuantificación de anemia fetal o recuento de plaquetas/linfocitos)<sup>17,62</sup>.

En la práctica rutinaria, las siguientes indicaciones se han convertido en extremadamente raras, siendo reemplazadas ampliamente por BVC y amniocentesis<sup>17,62</sup>: cariotipo completo, determinación del tipo de sangre o estado de antígeno plaquetario, estudios genéticos, infección, estudios serológicos o plasmáticos (e.g. metabolitos, hormonas).

### **5. LISTA DE CHEQUEO ANTES Y DESPUES DEL PROCEDIMIENTO**

- El estado Rhesus(RH) materno y la presencia de aloanticuerpos en el suero debe ser evaluado antes de realizar un procedimiento prenatal invasivo; debe administrarse inmunoglobulina anti-D profiláctica a mujeres no sensibilizadas en las 72 h post-procedimiento a menos que el padre del feto se haya confirmado como Rhesus(Rh) negativo.
- No se recomienda el tamizaje universal de virus transmitidos por la sangre (virus hepatitis B y C (HBV y HCV); ni virus de inmunodeficiencia humana (VIH).
- No se recomienda el uso rutinario de antibiótico profiláctico previo al procedimiento invasivo.
- Los principios fundamentales de asepsia deben mantenerse durante la realización de un procedimiento invasivo.
- Debe proveerse un reporte detallado del procedimiento al encargado del manejo de la paciente.

#### **Grupo sanguíneo materno y profilaxis Rhesus(Rh) (NIVEL DE EVIDENCIA: 2+)**

Todas las guías disponibles recomiendan evaluar el estado Rhesus de las mujeres y la presencia de aloanticuerpos previo a procedimientos invasivos<sup>68</sup>. La profilaxis Rhesus es firmemente recomendada posterior a procedimiento invasivo en mujeres no sensibilizadas Rhesus-negativo con una pareja Rhesus positivo (a menos que el feto se haya reportado como

Rhesus negativo por un test cffDNA en suero materno). Una dosis única de anticuerpos anti-D en preparación fija es usada comúnmente<sup>68</sup>. En una serie prospectiva de 361 mujeres Rhesus negativo llevadas a amniocentesis, quienes no recibieron profilaxis anti-D y tuvieron un hijo Rhesus positivo, cinco (1,4%) tuvieron un resultado positivo de anticuerpos anti-D; ninguno de los nacidos tuvo consecuencias clínicas<sup>69</sup>. La tasa correspondiente en una serie de 115 mujeres fue 3.4%; uno de esos 4 nacidos requirió dos exsanguinotransfusiones pero su desarrollo fue reportado normal a los 2 años de edad<sup>70</sup>. Sin embargo, la profilaxis anti-Rhesus posterior a amniocentesis ha sido recomendada desde finales de los 70s<sup>71</sup>, y en una serie de 944 mujeres Rhesus negativas que recibieron inmunoglobulina anti-D no se reportó ningún caso de sensibilización<sup>72</sup>.

#### **Tamizaje materno para enfermedades virales transmitidas por sangre**

El riesgo de transmisión viral al feto a través de pruebas invasivas es despreciable y probablemente se encuentra limitado a esas mujeres con alta carga viral<sup>73</sup>.

#### **Profilaxis antibiótica**

Hay solo un ECA de la administración de antibiótico profiláctico (Azitromicina) antes de la amniocentesis (n=34923): una tasa más baja de aborto asociado al procedimiento (0.03%) y RPM pretérmino (0.06%) fue observada en el grupo de azitromicina (n=21219) vs el grupo de no intervención (0.28% y 1.12% respectivamente, n=12529)<sup>74</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 1-**). Sin embargo la publicación de este estudio condujo a disputas científicas y legales<sup>75-77</sup> por lo que sus resultados deben interpretarse con precaución. En un estudio retrospectivo mucho más pequeño (n=1744) no encontró diferencias en la tasa de pérdida fetal entre pacientes tratadas con antibióticos profilácticos (amoxicilina/clavulónico o azitromicina, tasa 1.3%) y mujeres no tratadas (1.2%)<sup>78</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). Hay datos insuficientes de alta calidad para evaluar el efecto de la profilaxis antibiótica antes de un procedimiento invasivo<sup>79</sup>, y su uso rutinario no se encuentra respaldado.

#### **Ultrasonido (pre y post-procedimiento) (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

Antes de someter a una mujer a un procedimiento invasivo, los siguientes ítems deben ser evaluados por ultrasonido: número de fetos y viabilidad, localización placentaria, cantidad de líquido amniótico, edad gestacional<sup>3</sup>. El examen ultrasonográfico también es utilizado posterior al procedimiento invasivo para evaluar la frecuencia cardíaca fetal, la placenta (presencia de hematoma) y cantidad de líquido amniótico. Esto puede ser realizado inmediatamente o algunos días después, dependiendo de la política local<sup>22</sup>.

#### **Asepsia (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

Los principios básicos de asepsia necesitan ser conservados mientras se realiza un procedimiento invasivo para minimizar el riesgo de infección fetomaterna. Se recomienda el uso de una bandeja con guantes estériles, gasas, fórceps y agujas<sup>3</sup>. Antes de BVC transabdominal, amniocentesis o MSF, la piel abdominal debe ser limpiada con solución antiséptica (Clorexidina o yodada) y subsecuentemente cubierta con campos estériles. Se ha adoptado comúnmente, el uso de una bolsa estéril para cubrir el transductor. Alternativamente, el transductor puede ser desinfectado. Se recomienda firmemente el uso de gel estéril para evitar la contaminación bacteriana. Antes de la BVC transcervical, un espéculo estéril es insertado y las paredes vaginales y el cérvix son limpiados con solución antiséptica<sup>2,3,5</sup>.

#### **Anestesia local**

Un metanálisis reciente de Cochrane agrupó los resultados de cinco ECAs evaluando diferentes métodos de analgesia para amniocentesis, no hubo ensayos aleatorizados para BVC. Este concluyó que, en general, solo hay un dolor mínimo durante la amniocentesis, por lo tanto no hay evidencia que soporte el uso de analgesia<sup>80</sup> (NIVEL DE EVIDENCIA: 1+). Antes de la BVC transabdominal, puede usarse anestesia local para reducir la incomodidad de la paciente causado por el tamaño de la aguja mas grade<sup>2,30,80</sup>. En una encuesta reciente en el Reino Unido 89% de los operadores reportaron el uso de anestesia local en BVC<sup>47</sup> (NIVEL DE EVIDENCIA: 3). Antes de MSF, el uso de anestésico local puede considerarse con el fin de reducir el riesgo de los movimientos maternos durante el procedimiento<sup>62</sup>. El uso de anestesia local antes de BVC transcervical no ha sido reportado.

#### **Reporte (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

Un reporte detallado del procedimiento debe suministrarse a la paciente y a su proveedor de salud. Los siguientes datos deberían ser incluidos: indicación para el diagnóstico invasivo<sup>2</sup>; hallazgos de ultrasonido previos al procedimiento<sup>2</sup>; descripción del procedimiento: instrumento usado, sitio de punción, número de punciones, cantidad de la muestra, apariencia del líquido (en caso de amniocentesis); viabilidad de los fetos, apariencia de la placenta y volumen del líquido amniótico posterior al procedimiento<sup>2</sup>; estado Rhesus y profilaxis<sup>2</sup>; exámenes de laboratorio solicitados (cariotipo bandedo-G convencional y/o reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente (QF-PCR)/Hibridación in situ por fluorescencia (FISH) con o sin microarreglos)<sup>2</sup>.

#### **Instrucciones post-procedimiento (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

La limitación de la actividad física por 12 a 24 horas es opcional ya que no hay evidencia de beneficio clínico.

No se recomienda ningún tratamiento farmacológico particular aunque el uso de paracetamol (acetaminofén) puede ser considerado posterior al procedimiento en caso de incomodidad abdominal significativa<sup>3</sup>. La administración de progesterona o tocolíticos (i.e. terbutalina) posterior a amniocentesis o BVC no ha demostrado aún un beneficio claro en términos de desenlaces clínicos relevantes<sup>79</sup>. Se recomienda consulta genética en caso de resultado anormal<sup>17</sup> (NIVEL DE EVIDENCIA: 4),

#### **6. TIPOS DE PRUEBAS GENÉTICAS: QUÉ BUSCAR**

Las siguientes pruebas de laboratorio pueden practicarse en la muestra fetal obtenida por procedimiento invasivo: cariotipo completo, pruebas rápidas, diagnóstico molecular de desbalances cromosómicos y diagnóstico de enfermedad monogénica.

#### **Cariotipo completo (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

El método convencional para el análisis de cariotipo es el análisis de metafase en cultivo de amniocitos o células del mesénquima placentario obtenidas por amniocentesis o BVC, respectivamente. Los resultados están disponibles en 2 semanas. En contraste, el análisis de metafase de linfocitos fetales obtenidos por cordocentesis esta disponible en 2-5 días. Posterior a BVC, el análisis directo de las metafases del citotrofoblasto es posible y puede ser obtenido a los 5 días<sup>17</sup>.

#### **Pruebas rápidas (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)**

Pruebas rápidas como QF-PCR (o, más raramente, FISH), pueden ser realizadas en vellosidad o liquido amniótico para cromosomas específicos (21,13,18,X,Y). Estas pruebas proveen resultados en 1-2 días y son comúnmente empleados posterior a un resultado de tamizaje positivo o en fetos con hallazgos ultrasonográficos o marcadores comunes de aneuploidías<sup>17</sup>. En algunos escenarios, el uso de QF-PCR ha reemplazado el cariotipo completo. Sin embargo, se ha reportado ocasionalmente inexactitud en resultado de pruebas rápidas (falso positivo o falso negativo). Con base en esto, las pruebas rápidas anormales deben ser confirmada por el cultivo de metafases o deberían asociarse con alteraciones en ultrasonido antes de tomar decisiones clínicas respecto a la continuación del embarazo<sup>81</sup>. El derecho a la terminación del embarazo posterior a una prueba rápida anormal varía a través de los diferentes sistemas de salud y con base en políticas locales.

#### **Diagnóstico molecular de desbalances cromosómicos**

Las técnicas de microarreglo (e.g arreglo de hibridización genómica comparativa (aCGH)) fueron introducidas recientemente en el campo del diagnóstico prenatal. Estos métodos están disponibles para detectar deleciones submicroscópicas y deleciones cromosómicas (número de copias variantes



(CNV)<sup>17</sup>. Diferentes plataformas están disponibles, incluyendo genoma-extendido (resolución 10-400-Kb), objetivo (i.e. "cromosoma bacteriano artificial (BACS) – en collar" (BoBs)) y ensayos mixtos. En el primer estudio grande comparado microarreglos con cariotipo para diagnóstico prenatal, se encontró que este último puede detectar aberraciones clínicas relevantes en 6% de los fetos con cariotipo normal y defectos estructurales y en 1.7% de aquellos en que realizaron pruebas invasivas por edad avanzada materna o tamizaje con resultado positivo<sup>82</sup>. Muchos estudios que han seguido y han sido agrupados, mostraron un incremento en el rendimiento diagnóstico de 7.0% y 5.0% cuando se reportó el uso de hibridación genómica comparativa (aCGH) en fetos con enfermedad cardíaca congénita, o TN aumentada, respectivamente<sup>83,84</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). Rutinariamente, el uso de estas técnicas se recomienda en casos de malformación estructural fetal<sup>82</sup> o TN >3,5 mm en el primer trimestre<sup>83,84</sup>. En esos grupos de embarazos, una tasa mayor de número de copias variantes (CNV patológicos se obtuvieron con microarreglos en comparación con estudio convencional. Sin embargo, el uso en una población no seleccionada es firmemente debatido debido a la difícil interpretación y consejería en casos de variable con significado desconocido (VOUS). La posibilidad de no reportar VOUS con el fin de superar esta dificultad en la consejería a los padres en el contexto de un hallazgo incierto y probablemente irrelevante ha sido propuesto por algunos<sup>5</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**).

#### Diagnóstico de enfermedad monogénica

Procedimientos invasivos pueden ser usados en diagnóstico prenatal de alguna enfermedad monogénica cuyo defecto molecular sea bien conocido o haya sido caracterizado previamente (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**).

### 7. INFECCIÓN MATERNA

- El riesgo de transmisión de Virus de Hepatitis B (VHB) luego de la amniocentesis no parece incrementar en mujeres con antígenos HBeAg-negativos.
- El riesgo de transmisión vertical de VIH no parece incrementar en mujeres recibiendo terapia antiretroviral combinada altamente activa (HAART).
- Es prudente que en algún caso de infección materna por VHB, VHC o VIH se prefiera la prueba no invasiva, sin embargo, cuando la amniocentesis es realizada, debe evitarse el paso transplacentario.

En mujeres con infección crónica, la inserción transplacentaria de la aguja debe evitarse. En general, las tasas de transmisión materna se ha visto que depende de la carga viral materna<sup>85</sup>.

#### Virus Hepatitis B (VHB)

Un estudio comparando las tasas de transmisión vertical en niños de madres antígenos VHB positivos que fueron o no a amniocentesis encontró que el grupo de amniocentesis tuvo una tasa general más alta de transmisión (6.35% vs 2.53%). Las tasas de transmisión no difieren entre amniocentesis y grupos de control cuando la carga viral fue baja, pero fueron muy altas en el grupo de amniocentesis (50%) con carga viral  $\geq 7 \log_{10}/\text{mL}$ <sup>85</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

La tasa de transmisión fetal no parece incrementar en mujeres HBeAg-positivo HBeAg negativo en comparación con controles (1.5-3%), mientras el riesgo probablemente incrementa comparado con controles en pacientes HBeAg positivo. El rol protector de inmunoprofilaxis o terapia antiviral antes del procedimiento no ha sido explorado en estos casos<sup>86,87</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

Aunque los datos son limitados, particularmente con respecto al incremento del riesgo en mujeres HBeAg positivo, la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Canadá, recomienda rutinariamente hacer todo esfuerzo para evitar la inserción de la aguja a través o muy cerca de la placenta<sup>73</sup>.

#### Virus Hepatitis C (VHC)

Pocos datos están disponibles de la tasa de transmisión materno fetal de VHC durante amniocentesis, aunque las tasas de infección fetal han mostrado ser similares en casos de madres VHC positivo no llevadas a amniocentesis<sup>17</sup>.

#### Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)

La amniocentesis fue un factor de riesgo mayor para transmisión vertical de VIH en la era de la medicación pre-antiretroviral. Un estudio retrospectivo en 553 nacidos de mujeres VIH-1 positivo reportó que la amniocentesis fue un factor de riesgo independiente para transmisión vertical, incrementando el riesgo aproximadamente 4 veces (odds ratio, 4.1 (IC95%, 2.1-9.5))<sup>88</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**).

La introducción de la terapia antiretroviral combinada (c-ART) cambió este panorama de manera radical. Un estudio español comparó el desenlace de 366 madres VIH-positivo antes y después de 1997, cuando la terapia antiretroviral fue implementada ampliamente: las tasas de transmisión vertical en mujeres llevadas a amniocentesis y aquellas que no fueron 30% (3/10) y 16.2% (40/247), respectivamente, antes de 1997, mientras que las tasas correspondientes disminuyeron a 0% (0/18) y 3.7% (3/81) después de 1997<sup>89</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Tasas similarmente bajas fueron reportadas después de 1997 en un estudio italiano (3.3%)<sup>90</sup> y uno francés (0%)<sup>91</sup>. Además, un estudio multicéntrico francés mostró la superioridad de HAART (tasa de transmisión, 0%) sobre zidovudina sola (tasa de transmisión, 6.1%) o la ausencia de tratamiento (tasas de transmisión, 25,0%) en mujeres VIH positivo llevadas a amniocentesis<sup>92</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

En mujeres embarazadas infectadas por VIH, la transmisión fetal no parece incrementar en aquellas llevadas a amniocentesis comparadas con controles cuando se realizó el procedimiento con una carga viral baja, cuando la paciente estuvo en c-ART antes de concebir o si la carga viral era alta pero se inició c-ART al menos 2 semanas antes de la amniocentesis<sup>90,93</sup>.

De acuerdo a la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Canadá, para mujeres que no se encuentran en c-ART, el riesgo de transmisión vertical se incrementa por la amniocentesis. Cuando sea posible, c-ART debería iniciarse y posponer el procedimiento hasta que la carga viral sea indetectable<sup>73</sup>. Similar a HBV y HCV, debe hacerse todo esfuerzo para evitar el paso de la aguja en madres VIH positivo a través de la placenta o muy cerca a la misma<sup>73</sup>.

El riesgo de transmisión vertical de HBV, HCV o VIH posterior a BVC o cordocentesis aún no ha sido investigado a fondo<sup>73</sup>.

## 8. EMBARAZO MÚLTIPLE

- Las tasas de pérdida fetal posterior a BVC y amniocentesis parece ser similar en embarazos gemelares (**GRADO DE RECOMENDACIÓN: C**).

En embarazo múltiple es preferible que el procedimiento invasivo sea llevado a cabo por un especialista capacitado para realizar la terminación selectiva<sup>17</sup>. Los datos respecto al riesgo de aborto relacionado a procedimientos proviene de estudios de cohorte retrospectiva y no se encuentran ECAs disponibles.

### Amniocentesis en gemelos

Muchos estudios retrospectivos han evaluado la tasa de aborto posterior a amniocentesis en gemelos. Entre estos, el más reciente, un estudio canadiense de casos y controles reportó una tasa de pérdida posterior a amniocentesis, comparado con 0.8% en controles<sup>94</sup>; una serie española reportó una tasa de pérdida de 2.7% vs 2.6%<sup>95</sup> y un estudio americano reportó una tasa de pérdida de 3.2% vs 1.4%<sup>96</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Un metanálisis resumiendo los datos reportó una tasa agrupada de pérdida gestacional del 3.07%, y un 2.54% de pérdida antes de las 24 semanas; para estudios de casos y controles, la tasa de pérdida agrupada para embarazos gemelares llevados a amniocentesis y para controles fue 2.59% vs 1.53% (RR, 1.81 (IC95%, 1.02-3.19))<sup>97</sup>. No se encontraron diferencias entre ingreso único vs doble<sup>97</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**).

### BVC en embarazo gemelar

Los datos para BVC en gemelos son aún más limitados. El metaanálisis<sup>97</sup> citado reportó una tasa perdida agrupada del 3.84% después de una BVC en gemelos. No se encontraron diferencias significativas entre la vía

transabdominal o transcervical; usando sistema de una aguja vs doble y punción uterina única vs doble<sup>97</sup>. (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2++**). No se han encontrado diferencias significativas en tasas de pérdida comparando BVC vs amniocentesis en estudios retrospectivos donde se compararon estos dos métodos. Un estudio que incluía datos desde 1984–1990 reportó una tasa de pérdida del 3.2% después de BVC vs 2.9% después de amniocentesis<sup>98</sup>. Datos similares fueron reportados en un estudio más reciente donde la tasa de pérdida fue del 3.85% y 4.0% después de BVC y amniocentesis respectivamente<sup>99</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). Hay datos insuficientes para comparar el riesgo de pérdida con BVC con el riesgo a priori de embarazo gemelar.

### Embarazos múltiples de mayor orden

Los datos concernientes al riesgo de pérdida relacionado con procedimientos invasivos en embarazos múltiples de mayor orden son inexistentes.

### Corionicidad y mapeo

Antes de realizar un procedimiento invasivo en embarazos múltiples es muy importante realizar un mapeo cuidadoso de la corionicidad y placentación de manera acertada y marcar los gemelos (con diagramas) y anotar si el género es discordante<sup>3,100,101</sup>.

### Técnica para la toma de amniocentesis en gemelos

La técnica para la amniocentesis en gemelos varía según la corionicidad<sup>98</sup>.

#### *Amniocentesis en gemelos bicoriales*

En un embarazo gemelar bicorial, se recomienda tomar la muestra de ambas bolsas. Con la técnica de 2 punciones (una por cada bolsa), existe un riesgo bajo de punción en el mismo saco (1.8%)<sup>101</sup>. Para solucionar este inconveniente, se puede instilar un colorante en la primera bolsa (como índigo carmín) en los casos en que existe duda o cuando nos enfrentamos ante un embarazo múltiple de mayor número. El uso de azul de metileno como colorante se ha abandonado debido al incremento en el riesgo de anomalías congénitas (atresia yeyunal)<sup>102,103</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**). La técnica de punción única con el paso de la membrana intergemelar es una opción. En este caso, los primeros 1 – 2 ml de muestra de líquido amniótico posterior al paso de la membrana divisoria, se deben descartar para evitar la contaminación con el primer gemelo<sup>101</sup>. El riesgo de pérdida fetal no se ha visto aumentado con la técnica de punción única vs punción doble<sup>99</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 2+**).

#### *Amniocentesis en gemelos monocoriales biamnióticos*

En gemelos monocoriales biamnióticos, la toma de muestra de una sola bolsa es suficiente si se ha determinado claramente la corionicidad del embarazo

por ultrasonido previo a la semana 14 y el crecimiento fetal y la anatomía son concordantes. Si no es el caso, se debe considerar la toma de doble muestra<sup>101</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**). También se debe considerar la muestra de doble saco en casos de fertilización in vitro (FIV) o en los casos en que exista discordancia en la anomalía o crecimiento (bajo riesgo para heterocariotipo). Si la muestra de los dos sacos esta clínicamente indicada, la técnica de doble punción es la recomendada para evitar la monoamnionidad iatrogénica<sup>101</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**).

#### **Técnica de BVC en gemelos**

La técnica de BVC en gemelos también debe estar adaptada a la corionicidad<sup>97</sup>.

#### *BVC en gemelos bicoriales*

En gemelos bicoriales a los que se les va a realizar BVC transabdominal, puede realizarse tanto la técnica de dos punciones separadas, una en cada área trofoblástica, o la técnica de punción única secuencial (doble aguja con una externa 18–19G y dos internas diferentes de 20 G, una para cada placenta). En BVC transcervical se garantiza la toma de dos biopsias, una de cada placenta<sup>101</sup> (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**). El error en la toma de la muestra o la toma inadecuada de la misma se puede presentar en un 3–4% de los casos<sup>101</sup>. La contaminación cruzada con tejido coriónico de diferente placenta en la misma muestra puede ocurrir en el 1% de BVC en gemelos<sup>104</sup>. Para disminuir este riesgo de resultados no fidedignos o incorrectos, se recomienda tomar la muestra cercana a la inserción del cordón y evitar el área que circunda a la membrana divisoria. Como alternativa, también se puede considerar la combinación de la vía transabdominal con la transcervical (**NIVEL DE EVIDENCIA: 4**).

#### *BVC en gemelos monocoriales (NIVEL DE EVIDENCIA: 4)*

En gemelos monocoriales, la toma de una muestra única alrededor del ecuador, se puede garantizar. Se debe considerar la toma de amniocentesis a las dos bolsas después de FIV o en casos de discordancia en peso y/o anomalía fetal. ( por el riesgo de heterocariotipo en estos casos)<sup>101</sup>.

#### **9. TROMBOPROFILAXIS ANTES DE PROCEDIMIENTOS INVASIVOS**

No existen datos disponibles acerca de descontinuar la tromboprofilaxis antes de procedimientos invasivos fetales. Las recomendaciones se pueden extrapolar de otros estudios donde se realizaron procedimientos invasivos percutáneos, incluyendo biopsia hepática. Concerniente a la dosis profiláctica de ASA y heparinas de bajo peso molecular, la suspensión del mismo previo al procedimiento parece no estar justificada clínicamente. Sin embargo, se aconseja la no aplicación

de una dosis de heparina<sup>105,106</sup>.

#### **10. AUDITORIA**

Cada examinador debe llevar consigo su propio control de calidad, colectando los siguientes parámetros: número de intervenciones realizadas por año, número de muestras con material insuficiente, número de muestras con líquido amniótico sanguinolento, número de intervenciones con más de un intento y número de punciones; desenlace de la gestación (incluyendo el número de abortos y el intervalo entre el procedimiento y la pérdida, escape de líquido, parto prematuro y ruptura de membranas ) y otras complicaciones en el embarazo<sup>22</sup>.

#### **11. ENTRENAMIENTO**

El entrenamiento para procedimientos invasivos debería empezar en un modelo de simulación, para practicar el mantenimiento de la trayectoria de la aguja dentro de la ventana de ultrasonido, de modo que toda la aguja permanezca visible en todo momento para garantizar la seguridad. El entrenamiento clínico debería iniciar con amniocentesis “simple” (i.e placenta posterior y con adecuada cantidad de líquido amniótico) o BVC (i.e placenta fácilmente accesible) o en mujeres llevadas a terminación de la gestación donde sea permitida. El número mínimo de procedimientos que son necesarios que realice el operador con el fin de optimizar sus competencias en hacer con seguridad, varía ampliamente en la literatura (desde 45 a 300). Sin embargo, de acuerdo a la mayoría, después de 100 procedimientos realizados independientemente no espera ninguna mejoría<sup>2</sup>.

These Guidelines should be cited as: ‘Ghi T, Sotiriadis A, Calda P, Da Silva Costa F, Raine-Fenning N, Alfirevic Z, McGillivray G, on behalf of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis in obstetrics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; **48**:256–268.’

#### **REFERENCIAS**

1. Sarto GE. Prenatal diagnosis of genetic disorders by amniocentesis. *Wis Med J* 1970; **69**: 255–260.
2. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. *Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling*. Green-top Guideline No. 8, June 2010.
3. Wilson RD, Davies G, Gagnon A, Desilets V, Reid GJ, Summers A, Wyatt P, Allen VM, Langlois S; Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Amended Canadian guideline for prenatal diagnosis (2005)

- change to 2005—techniques for prenatal diagnosis. *J Obstet Gynaecol Can* 2005; **27**: 1048–1062.
4. Tabor A, Alfirevic Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn Ther* 2010; **27**: 1–7.
  5. Cruz-Lemini M, Parra-Saavedra M, Borobio V, Bannasar M, Gonc'e A, Mart'inez JM, Borrell A. How to perform an amniocentesis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; **44**: 727–731.
  6. Athanasiadis AP, Pantazis K, Goulis DG, Chatzigeorgiou K, Vaitis V, Assimakopoulos E, Tzeveleki F, Tsalikis T, Bontis JN. Comparison between 20G and 22G needle for second trimester amniocentesis in terms of technical aspects and short-term complications. *Prenat Diagn* 2009; **29**: 761–765.
  7. Uludag S, Aydin Y, Ibrahimova F, Madazli R, Sen C. Comparison of complications in second trimester amniocentesis performed with 20G, 21G and 22G needles. *J Perinat Med* 2010; **38**: 597–600.
  8. Giorlandino C, Mobili L, Bilancioni E, D'Alessio P, Carcioppolo O, Gentili P, Vizzone A. Transplacental amniocentesis: is it really a higher-risk procedure? *Prenat Diagn* 1994; **14**: 803–806.
  9. Bombard AT, Powers JF, Carter S, Schwartz A, Nitowsky HM. Procedure-related fetal losses in transplacental versus nontransplacental genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; **172**: 868–872.
  10. Marthin T, Liedgren S, Hammar M. Transplacental needle passage and other risk-factors associated with second trimester amniocentesis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; **76**: 728–732.
  11. Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe? *Am J Obstet Gynecol* 2004; **191**: 607–615.
  12. Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Nørgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; **1**: 1287–1293.
  13. Calda P, Brestak M. Amniocentesis vs standard syringe technique for amniocentesis: experience with 1219 cases. *Am J Obstet Gynecol* 2009; **201**: 593.
  14. Nuss S, Brebaum D, Grond-Ginsbach C. Maternal cell contamination in amniotic fluid samples as a consequence of the sampling technique. *Hum Genet* 1994; **93**: 121–124.
  15. Hockstein S, Chen PX, Thangavelu M, Pergament E. Factors associated with maternal cell contamination in amniocentesis samples as evaluated by fluorescent in situ hybridization. *Obstet Gynecol* 1998; **92**: 551–556.
  16. Welch RA, Salem-Elgharib S, Wiktor AE, Van Dyke DL, Blessed WB. Operator experience and sample quality in genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; **194**: 189–191.
  17. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2007; **110**: 1459–1467.
  18. Johnson JM, Wilson RD, Winsor EJ, Singer J, Dansereau J, Kalousek DK. The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis versus midtrimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1996; **11**: 85–93.
  19. Wilson RD, Johnson J, Windrim R, Dansereau J, Singer J, Winsor EJ, Kalousek D. The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis and midtrimester amniocentesis. II. Evaluation of procedure details and neonatal congenital anomalies. *Fetal Diagn Ther* 1997; **12**: 97–101.
  20. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. *Lancet* 1998; **351**: 242–247.
  21. Farrell SA, Summers AM, Dallaire L, Singer J, Johnson JA, Wilson RD. Club foot, an adverse outcome of early amniocentesis: disruption or deformation? CEMAT. Canadian Early and Mid-Trimester Amniocentesis Trial. *J Med Genet* 1999; **36**: 843–846.
  22. K'ahler C, Gembruch U, Heling KS, Henrich W, Schramm T; DEGUM. [DEGUM guidelines for amniocentesis and chorionic villus sampling]. *Ultraschall Med* 2013; **34**: 435–440.
  23. O'Donoghue K, Giorgi L, Pontello V, Pasquini L, Kumar S. Amniocentesis in the third trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 2007; **27**: 1000–1004.
  24. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; **45**: 16–26.
  25. Wulff CB, Gerds TA, Rode L, Ekelund CK, Petersen OB, Tabor A; Danish Fetal Medicine Study Group. The risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first trimester risk screening for Down syndrome – a national cohort of 147 987 singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; **47**: 38–44.
  26. Philip J, Silver RK, Wilson RD, Thom EA, Zachary JM, Mohide P, Mahoney MJ, Simpson JL, Platt LD, Pergament E, Hershey D, Filkins K, Johnson A, Shulman

- LP, Bang J, MacGregor S, Smith JR, Shaw D, Wapner RJ, Jackson LG. Late first-trimester invasive prenatal diagnosis: results of an international randomized trial; NICHD EATA Trial Group. *Obstet Gynecol* 2004; **103**: 1164–1173.
27. Borgida AF, Mills AA, Feldman DM, Rodis JF, Egan JF. Outcome of pregnancies complicated by ruptured membranes after genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2000; **183**: 937–939.
28. Cross HE, Maumenee AE. Ocular trauma during amniocentesis. *Arch Ophthalmol* 1973; **90**: 303–304.
29. Epley SL, Hanson JW, Cruikshank DP. Fetal injury with midtrimester diagnostic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1979; **53**: 77–80.
30. Cambiaghi S, Restano L, Cavalli R, Gelmetti C. Skin dimpling as a consequence of amniocentesis. *J Am Acad Dermatol* 1998; **39**: 888–890.
31. Sepúlveda W, Quiroz V, Fernández R. [Trauma of the fetal vessels during amniocentesis]. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1984; **49**: 99–103.
32. Eller KM, Kuller JA. Porencephaly secondary to fetal trauma during amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1995; **85**: 865–867.
33. Squier M, Chamberlain P, Zaiwalla Z, Anslow P, Oxbury J, Gould S, McShane MA. Five cases of brain injury following amniocentesis in mid-term pregnancy. *Dev Med Child Neurol* 2000; **42**: 554–560.
34. Okyay RE, Gode F, Saatli B, Guclu S. Late-onset maternal mortality after amniocentesis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; **158**: 367–368.
35. Bodner K, Wierrani F, Bodner-Adler B. Maternal sepsis due to *Clostridium perfringens* after 2nd-trimester genetic amniocentesis. *J Obstet Gynaecol* 2011; **31**: 339–340.
36. Pinette MG. Maternal death after second-trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2005; **106**: 409.
37. Elchalal U, Shachar IB, Peleg D, Schenker JG. Maternal mortality following diagnostic 2nd-trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 2004; **19**: 195–198.
38. Plachouras N, Sotiriadis A, Dalkalitsis N, Kontostolis E, Xiroptamos N, Paraskevaidis E. Fulminant sepsis after invasive prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol* 2004; **104**: 1244–1247.
39. Hess LW, Anderson RL, Golbus MS. Significance of opaque discolored amniotic fluid at second-trimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1986; **67**: 44–46.
40. Tabor A, Vestergaard CH, Lidegaard Ø. Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; **34**: 19–24.
41. Towner D, Currier RJ, Lorey FW, Cunningham GC, Greve LC. Miscarriage risk from amniocentesis performed for abnormal maternal serum screening. *Am J Obstet Gynecol* 2007; **196**: 608.e1–5.
42. Harper LM, Cahill AG, Smith K, Macones GA, Odibo AO. Effect of maternal obesity on the risk of fetal loss after amniocentesis and chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2012; **119**: 745–751.
43. Department of Obstetrics and Gynecology, Tietung Hospital, Anshan, China. Fetal sex prediction by sex chromatin of chorionic cells during early pregnancy. *Chin Med J (Engl)* 1975; **1**: 117–126.
44. Niazi M, Coleman DV, Loeffler FE. Trophoblast sampling in early pregnancy. Culture of rapidly dividing cells from immature placental villi. *Br J Obstet Gynaecol* 1981; **88**: 1081–1085.
45. Young C, von Dadelszen P, Alfirevic Z. Instruments for chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; **1**: CD000114.
46. Jackson LG, Zachary JM, Fowler SE, Desnick RJ, Golbus MS, Ledbetter DH, Mahoney MJ, Pergament E, Simpson JL, Black S, et al. A randomized comparison of transcervical and transabdominal chorionic-villus sampling. The U.S. National Institute of Child Health and Human Development Chorionic-Villus Sampling and Amniocentesis Study Group. *N Engl J Med* 1992; **327**: 594–598.
47. Carlin AJ, Alfirevic Z. Techniques for chorionic villus sampling and amniocentesis: a survey of practice in specialist UK centres. *Prenat Diagn* 2008; **28**: 914–919.
48. Battagliarin G, Lanna M, Coviello D, Tassis B, Quarenghi A, Nicolini U. A randomized study to assess two different techniques of aspiration while performing transabdominal chorionic villus sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; **33**: 169–172.
49. von Dadelszen P, Sermer M, Hillier J, Allen LC, Fernandes BJ, Johnson JA, Shime J, Winsor EJ, Ryan G. A randomised controlled trial of biopsy forceps and cannula aspiration for transcervical chorionic villus sampling. *BJOG* 2005; **112**: 559–566.
50. Mastroiacovo P, Botto LD, Cavalcanti DP, Lalatta F, Selicorni A, Tozzi AE, Baronciani D, Cigolotti AC, Giordano S, Petroni F, et al. Limb anomalies following chorionic villus sampling: a registry based case-control study. *Am J Med Genet* 1992; **44**: 856–864.
51. Botto LD, Olney RS, Mastroiacovo P, Khoury MJ, Moore CA, Alo CJ, Costa P, Edmonds LD, Flood TJ, Harris JA, Howe HL, Olsen CL, Panny SR, Shaw GM.

- Chorionic villus sampling and transverse digital deficiencies: evidence for anatomic and gestational-age specificity of the digital deficiencies in two studies. *Am J Med Genet* 1996; **62**: 173–178.
52. Brambati B, Lanzani A, Tului L. Transabdominal and transcervical chorionic villus sampling: efficiency and risk evaluation of 2,411 cases. *Am J Med Genet* 1990; **35**: 160–164.
53. Papp C, Beke A, Mezei G, Tóth-Pál E, Papp Z. Chorionic villus sampling: a 15-year experience. *Fetal Diagn Ther* 2002; **17**: 218–227.
54. Odibo AO, Dicke JM, Gray DL, Oberle B, Stamilio DM, Macones GA, Crane JP. Evaluating the rate and risk factors for fetal loss after chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2008; **112**: 813–819.
55. Donner C, Simon P, Karioun A, Delneste D, Abramowicz M, Cochaux P, Rodesch F. Experience with 1251 transcervical chorionic villus samplings performed in the first trimester by a single team of operators. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; **60**: 45–51.
56. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, Lundsteen C, Zachary J, Fowler S, Grønning K. Randomized comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992; **340**: 1237–1244.
57. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; **3**: CD003252.
58. Basaran A, Basaran M, Topatan B. Chorionic villus sampling and the risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2011; **283**: 1175–1181.
59. Sotiriadis A, Eleftheriades M, Chatzinikolaou F, Chatzistamatiou K, Assimakopoulos E, Chasiakos D. Fetal growth impairment after first-trimester chorionic villus sampling: a case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015 **29**: 1–5.
60. Akolekar R1, Bower S, Flack N, Bilardo CM, Nicolaides KH. Prediction of miscarriage and stillbirth at 11–13 weeks and the contribution of chorionic villus sampling. *Prenat Diagn* 2011; **31**: 38–45.
61. Orlandi F, Damiani G, Jakil C, Rossi C, Maggio A, Scola B, Cittadini E, Quartararo P. Clinical results and fetal biochemical data in 140 early second trimester diagnostic cordocenteses. *Acta Eur Fertil* 1987; **18**: 329–333.
62. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), Berry SM, Stone J, Norton ME, Johnson D, Berghella V. Fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 2013 Sep; **209**: 170–180.
63. Nicolaidis P, Nicolini U, Fisk NM, Tannirandorn Y, Nasrat H, Rodeck CH. Fetal blood sampling from the intrahepatic vein for rapid karyotyping in the second and third trimesters. *Br J Radiol* 1991; **64**: 505–509.
64. Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikaturkul C, Sirirchotiyakul S, Piyamongkol W, Chanprapaph P. Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation. *Am J Obstet Gynecol* 2001; **184**: 719–723.
65. Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, Neales K, Allan L, Knott P. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; **98**: 892–897.
66. Antsaklis A, Daskalakis G, Papantoniou N, Michalas S. Fetal blood sampling--indication-related losses. *Prenat Diagn* 1998; **18**: 934–940.
67. Liao C, Wei J, Li Q, Li L, Li J, Li D. Efficacy and safety of cordocentesis for prenatal diagnosis. *Int Gynecol Obstet* 2006; **93**: 13–17.
68. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The use of Anti-D Immunoglobulin for Rhesus D Prophylaxis. Green-top Guideline No. 22. London: RCOG Press, March 2011. <http://obgyn2015.org/wp-content/uploads/2015/11/Rh-negative-and-AntiD.pdf>.
69. Tabor A, Jerne D, Bock JE. Incidence of rhesus immunisation after genetic amniocentesis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; **293**: 533–536.
70. Murray JC, Karp LE, Williamson RA, Cheng EY, Luthy DA. Rh isoimmunization related to amniocentesis. *Am J Med Genet* 1983; **16**: 527–534.
71. Henrion R, Papa F, Rouvillois JL, Henrion-Géant E. [Early amniocentesis, 1061 punctures and 1000 pregnancies]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1979; **8**: 603–611.
72. Brandenburg H, Jahoda MG, Pijpers L, Wladimiroff JW. Rhesus sensitization after midtrimester genetic amniocentesis. *Am J Med Genet* 1989; **32**: 225–226.
73. Gagnon A, Davies G, Wilson RD; Genetics Committee, Wilson RD, Audibert F, Brock JA, Campagnolo C, Carroll J, Chitaya DT, Gagnon A, Johnson JA, MacDonald W, Murphy-Kaulbeck L, Okun N, Pastuck M; Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada. Prenatal invasive procedures in women with hepatitis B, hepatitis C, and/or human immunodeficiency virus infections. *J Obstet Gynaecol Can* 2014; **36**: 648–655.
74. Giorlandino C, Cignini P, Cini M, Brizzi C, Carcioppolo O, Milite V, Coco C, Gentili P, Mangiafico L, Mesoraca A, Bizzoco D, Gabrielli I, Mobili L. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis (APGA): a single-centre

- open randomised controlled trial. *Prenat Diagn* 2009; **29**: 606–612.
75. Alfirevic Z, Pilu G. Antibiotic prophylaxis for amniocentesis. *Prenat Diagn* 2009; **29**: 1094.
76. Ferrazzi E. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 2010; **30**: 188.
77. Hobbins JC, Pilu G, Abuhumad A, Alfirevic Z, Bahado-Singh RO, Benacerraf BR, Berkowitz RL, Cetin I, Copel JA, Eik-Nes S, Frusca T, Galan HL, Guaschino S, Mahoney MJ, Marsal K, Malinger G, Marconi AM, Martinelli P, Moore TR, Papageorghiou AT, Platt LD, Rizzo N, Tabor A, Thilaganathan B, Timor-Tritsch IE, Todros T, Yagel S. Antibiotic prophylaxis before amniocentesis. *Prenat Diagn* 2011; **31**: 1213–1214.
78. Gramellini D, Fieni S, Casilla G, Raboni S, Nardelli GB. Mid-trimester amniocentesis and antibiotic prophylaxis. *Prenat Diagn* 2007; **27**: 956–959.
79. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Technique modifications for reducing the risks from amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; **8**: CD008678.
80. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Analgesia for amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; **11**: CD008580.
81. Technical and clinical assessment of fluorescence in situ hybridization: an ACMG/ASHG position statement. Technical considerations. American College of Medical Genetics. *Genet Med* 2000; **2**: 356–361.
82. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet al, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; **367**: 2175–2184.
83. Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Cobben JM, Odibo AO, Borrell A, Haak MC. Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; **45**: 27–35.
84. Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, Borrell A. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; **46**: 650–658.
85. Yi W, Pan CQ, Hao J, Hu Y, Liu M, Li L, Liang D. Risk of vertical transmission of hepatitis B after amniocentesis in HBs antigen-positive mothers. *J Hepatol* 2014; **60**: 523–529.
86. Towers CV, Asra T, Rumney P. The presence of hepatitis B surface antigen and deoxyribonucleic acid in amniotic fluid and cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 1999; **184**: 1514–1518.
87. Grosheide PM, Quatero HW, Schalm SW, Heijntink RA, Christiaens GC. Early invasive prenatal diagnosis in HBsAg-positive women. *Prenat Diagn* 1994; **14**: 553–558.
88. Tess BH, Rodrigues LC, Newell ML, Dunn DT, Lago TD. Breastfeeding, genetic, obstetric and other risk factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 in Sao Paulo State, Brazil. Sao Paulo Collaborative Study for Vertical Transmission of HIV-1. *AIDS* 1998; **12**: 513–520.
89. Maiques V, Garcia-Tejedor A, Perales A, Córdoba J, Esteban RJ. HIV detection in amniotic fluid samples. Amniocentesis can be performed in HIV pregnant women? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; **108**: 137–141.
90. Somigliana E, Bucci AM, Tibaldi C, Alberico S, Ravizza M, Savasi V, Marini S, Matrone R, Pardi G; Italian Collaborative Study on HIV Infection in Pregnancy. Early invasive diagnostic techniques in pregnant women who are infected with the HIV: a multicenter case series. *Am J Obstet Gynecol* 2005; **193**: 437–442.
91. Ekoukou D, Khuong-Josses MA, Ghibaudo N, Mechali D, Rotten D. Amniocentesis in pregnant HIV-infected patients. Absence of mother-to-child viral transmission in a series of selected patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; **140**: 212–217.
92. Mandelbrot L, Jasseron C, Ekoukou D, Batallan A, Bongain A, Pannier E, Blanche S, Tubiana R, Rouzioux C, Warszawski J; ANRS French Perinatal Cohort (EPF). Amniocentesis and mother-to-child human immunodeficiency virus transmission in the Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les Hépatites Virales French Perinatal Cohort. *Am J Obstet Gynecol* 2009; **200**: 160.e1–9.
93. Shapiro DE, Sperling RS, Mandelbrot L, Britto P, Cunningham BE. Risk factors for perinatal human immunodeficiency virus transmission in patients receiving zidovudine prophylaxis. Pediatric AIDS Clinical Trials Group protocol 076 Study Group. *Obstet Gynecol* 1999; **94**: 897–908.
94. Millaire M, Bujold E, Morency AM, Gauthier RJ. Mid-trimester genetic amniocentesis in twin pregnancy and the risk of fetal loss. *J Obstet Gynaecol Can* 2006; **28**: 512–518.

95. Lenis-Cordoba N, Sa´nchez MA´, Bello-Mun˜oz JC, Sagala´-Martinez J, Campos N, Carreras-Moratonas E, Cabero-Roura L. Amniocentesis and the risk of second trimester fetal loss in twin pregnancies: results from a prospective observational study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013; **26**: 1537–1541.
96. Cahill AG, Macones GA, Stamilio DM, Dicke JM, Crane JP, Odibo AO. Pregnancy loss rate after mid-trimester amniocentesis in twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2009; **200**: 257.e1–6.
97. Agarwal K, Alfirevic Z. Pregnancy loss after chorionic villus sampling and genetic amniocentesis in twin pregnancies: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; **40**: 128–134.
98. Wapner RJ, Johnson A, Davis G, Urban A, Morgan P, Jackson L. Prenatal diagnosis in twin gestations: a comparison between second-trimester amniocentesis and first-trimester chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1993; **82**: 49–56.
99. Simonazzi G, Curti A, Farina A, Pilu G, Bovicelli L, Rizzo N. Amniocentesis and chorionic villus sampling in twin gestations: which is the best sampling technique? *Am J Obstet Gynecol* 2010; **202**: 365.e1–5.
100. Pergament E, Schulman JD, Copeland K, Fine B, Black SH, Ginsberg NA, Frederiksen MC, Carpenter RJ. The risk and efficacy of chorionic villus sampling in multiple gestations. *Prenat Diagn* 1992; **12**: 377–384.
101. Audibert F, Gagnon A; Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada; Prenatal Diagnosis Committee of the Canadian College of Medical Geneticists. Prenatal screening for and diagnosis of aneuploidy in twin pregnancies. *J Obstet Gynaecol Can* 2011; **33**: 754–767.
102. Kidd SA, Lancaster PA, Anderson JC, Boogert A, Fisher CC, Robertson R, Wass DM. A cohort study of pregnancy outcome after amniocentesis in twin pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1997; **11**: 200–213.
103. McFadyen I. The dangers of intra-amniotic methylene blue. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; **99**: 89–90.
104. Weisz B, Rodeck C. Invasive diagnostic procedures in twin pregnancies. *Prenat Diagn* 2005; **25**: 751–758.
105. Butwick AJ, Carvalho B. Anticoagulant and antithrombotic drugs in pregnancy: what are the anesthetic implications for labor and cesarean delivery? *J Perinatol* 2011; **31**: 73–84.
106. Patel IJ, Davidson JC, Nikolic B, Salazar GM, Schwartzberg MS, Walker TG, Saad WA; Standards of Practice Committee, with Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe (CIRSE) Endorsement. Consensus guidelines for periprocedural management of coagulation status and hemostasis risk in percutaneous image-guided interventions. *J Vasc Interv Radiol* 2012; **23**: 727–736.