



LINEE GUIDA SULLE TECNICHE INVASIVE IN DIAGNOSI PRENATALE

1. Scopo

Il molteplice numero di conoscenze scientifiche prodotte e pubblicate ogni anno rende difficile, se non in ambito molto settoriale e specialistico, prendere decisioni cliniche basate sistematicamente sulle migliori prove scientifiche disponibili.

Le linee guida nascono per cercare di dare una risposta a questa difficoltà. Il “Manuale metodologico – come produrre, diffondere ed aggiornare raccomandazioni per la pratica clinica”, prodotto nell'ambito del Programma Nazionale Linee Guida (PNLG) dall'Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali (ASSR) e dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), dà di esse la seguente definizione: *“raccomandazioni di comportamento clinico, elaborate mediante un processo di revisione sistematica della letteratura e delle opinioni di esperti, con lo scopo di assistere i medici e i pazienti nel decidere sulle modalità assistenziali più appropriate in specifiche situazioni cliniche”*.

Sempre secondo il PNLG, le linee guida dovrebbero consentire a tutti coloro che si occupano di sanità (clinici, amministratori, politici...) di assicurare il massimo di appropriatezza negli interventi, *“riducendo al minimo quella parte di variabilità nelle decisioni cliniche che è legata alla carenza di conoscenze e alla soggettività nella definizione delle strategie assistenziali”*.

2. Introduzione

In Italia nascono ogni anno circa 30000 neonati affetti da una malattia genetica o congenita; alcune di queste anomalie possono essere diagnosticate con apposite procedure che costituiscono le tecniche di diagnosi prenatale. Le tecniche, che consistono nel prelievo di campioni biologici fetali, sono *la villocentesi, l'amniocentesi, la funicolocentesi e l'embrioscopia/fetoscopia*,

Le malattie genetiche o congenite diagnosticabili in epoca prenatale possono essere suddivise in:

- anomalie cromosomiche
- malattie geniche
- malformazioni congenite
- infezioni fetali

Tali malattie possono essere:

- incompatibili con la vita
- associate con un'alta morbilità e disabilità a lungo termine
- soggette ad una potenziale terapia intrauterina
- soggette ad accertamenti o trattamenti postnatali più o meno precoci.

3. Metodologia

Le seguenti linee guida sono state elaborate utilizzando i criteri e i metodi previsti dal Manuale Metodologico (“Come produrre, diffondere e aggiornare raccomandazioni per la pratica clinica”) sviluppato nell'ambito del Programma Nazionale per le Linee Guida (PNLG, maggio 2002).

Le fonti utilizzate nella stesura di queste linee guida sono state MEDLINE a partire dal 1990, Cochrane Library fino al 2003, le linee guida prodotte dalle maggiori Società di Ginecologia e Ostetricia (ACOG, RCOG, SOCG), le linee guida nazionali di riferimento “Assistenza alla gravidanza e al parto fisiologico” (1° stesura, anno 2004).

Le parole chiave utilizzate per la ricerca su Web sono state “amniocentesi”, “villocentesi”, “cordocentesi”, “effetti collaterali”, “standard”, termini considerati rilevanti dal MeSH (Medical Subject Heading).

I livelli di evidenza e la forza delle raccomandazioni sono state classificate secondo il PNLG (Piano Nazionale Linee Guida) – Manuale Metodologico:

Livelli di evidenza

- I** Prove ottenute da almeno uno studio clinico controllato randomizzato e/o da revisioni sistematiche di studi randomizzati
- II** Prove ottenute da un solo studio randomizzato di disegno adeguato
- III** Prove ottenute da studi di coorte non randomizzati con controlli concorrenti o storici o loro metanalisi
- IV** Prove ottenute da studi retrospettivi tipo caso-controllo o loro metanalisi
- V** Prove ottenute da studi di casistica (“serie di casi”) senza gruppo di controllo
- VI** Prove basate sull’opinione di esperti autorevoli o di comitati di esperti come indicato in linee guida o consensus conference, o basate su opinioni dei membri del gruppo di lavoro responsabile di queste linee guida

Forza delle raccomandazioni

- A** L’esecuzione di quella particolare procedura o test diagnostico è fortemente raccomandata. Indica una particolare raccomandazione sostenuta da prove scientifiche di buona qualità, anche se non necessariamente di tipo I o II
- B** Si nutrono dei dubbi sul fatto che quella particolare procedura o intervento debba sempre essere raccomandata, ma si ritiene che la sua esecuzione debba essere attentamente considerata
- C** Esiste una sostanziale incertezza a favore o contro la raccomandazione di eseguire la procedura o l’intervento
- D** L’esecuzione della procedura non è raccomandata
- E** Si sconsiglia fortemente l’esecuzione della procedura
- ✓** Condotta di “buona pratica clinica” basata sull’esperienza del gruppo che ha sviluppato le linee guida

3.1 Metodi usati per analizzare l'evidenza

La classificazione di una raccomandazione secondo la gradazione A, B, C, D, E non rispecchia solo la qualità metodologica delle prove disponibili, ma anche il peso assistenziale dello specifico problema, i costi, l'accettabilità e praticabilità dell'intervento.

Questo schema differenzia chiaramente il livello di prova dalla forza delle raccomandazioni cercando di utilizzare le due dimensioni in modo relativamente indipendente, pur nell'ambito della massima trasparenza e secondo i criteri espliciti alla base degli schemi di grading.

3.2 Metodi di stesura e validazione

Le presenti linee-guida sono state poste all'attenzione di tutti i Revisori che le hanno studiate, analizzate ed infine, una volta corrette, rivalidate ed approvate.

Estensione: ad opera di studiosi delegati a raccogliere ed analizzare il materiale bibliografico.

Revisione: ad opera dei maggiori esperti nazionali della materia e del Consiglio eletto tra gli Esperti della S.I.Di.P.

3.3 Descrizione del metodo di stesura e validazione

Nome dei primi Estensori Esperti: **Dott.ssa Alessandra Tiezzi, Dott. Pietro Cignini, Dott.ssa Alessandra Girgenti**

3.4 Presentazione delle linee guida

Le presenti linee-guida vengono pubblicate sul Bollettino Ufficiale della Società di Diagnosi prenatale e Medicina Materno fetale, presentate alla Federazione delle Società Medico-scientifiche e al programma nazionale Linee Guida (ASSR e ISS), secondo quanto previsto dal Piano sanitario nazionale 1998-2000 e nel decreto legislativo di razionalizzazione del SSN 229/99.

4. Rischi, complicanze e timing

Con l'amniocentesi si possono effettuare lo studio del cariotipo fetale, la ricerca di agenti infettivi virali o protozoari nel liquido amniotico, l'esame del DNA fetale,

A

la determinazione della concentrazione di alfa-fetoproteina o di altri metaboliti fetali nel liquido amniotico.

B

Con la villocentesi si possono effettuare lo studio del cariotipo fetale, l'esame del DNA fetale,

A

la valutazione di attività enzimatiche.

B

Un'indicazione attuale all'esecuzione del prelievo di villi coriali è la presenza di uno screening ecografico del primo trimestre positivo.

A

Le coppie che prendono in considerazione i trattamenti di procreazione assistita per un fattore maschile di infertilità, devono essere informati sulla possibilità di un aumentato rischio di sviluppo di anomalie cromosomiche “de novo” nel feto. La diagnosi prenatale tramite prelievo dei villi coriali o amniocentesi deve essere proposta a tali coppie in caso di concepimento.

Livello di
evidenza II

Un'indicazione attuale all'esecuzione dell'amniocentesi è la presenza di uno screening ecografico del secondo trimestre positivo.

A

Con la cordocentesi si possono effettuare lo studio di parametri ematologici del feto,

A

la determinazione rapida del cariotipo fetale e terapie mediche fetali,

B

lo studio del DNA fetale e la ricerca di agenti infettivi,

C

lo studio del benessere fetale.

D

Con tale tecnica si può inoltre effettuare un approfondimento diagnostico in caso di: risultato dubbio all'amniocentesi (mosaicismi...), anemia fetale, idrope.

Tali procedure devono essere eseguite da uno specialista in Ostetricia e Ginecologia con competenze in materia di Diagnosi Prenatale e dopo opportuno training.



Le procedure devono essere eseguite nell'ambito di ambulatori chirurgici o in regime di Day Surgery.



Il DM 22 luglio 1996 ha stabilito che le prestazioni diagnostiche prenatali invasive erogate dal SSN debbano essere eseguite esclusivamente presso ambulatori situati nell'ambito di istituti di ricovero ospedaliero. In seguito, introdottasi in molte Regioni italiane la normativa relativa agli “ambulatori chirurgici” e/o ai “Day-Surgery”, ovvero dove sussista “*la possibilità clinica, organizzativa ed amministrativa di effettuare interventi chirurgici od anche procedure diagnostiche e/o terapeutiche invasive e seminvasive in regime di ricovero limitato alle sole ore del giorno, in anestesia locale, locoregionale o generale*”, si è proceduto a consentire tale pratica anche presso tali strutture. In seguito tale normativa è stata estesa in generale per le autorizzazioni nei presidi sanitari pubblici e privati. Tale obbligo, stante il carattere di legislazione congiunta in materia sanitaria (come da modifica del titolo V della Costituzione) è di fatto valido anche per le Regioni che non hanno ancora recepito quanto disposto dalla legge del 18 luglio 1996, n. 382 “*Disposizioni urgenti nel settore sanitario*” ovvero dal D.P.R. 14 gennaio 1997 “*Norme in materia di autorizzazione, vigilanza e accreditamento per i presidi sanitari e socio-sanitari, pubblici e privati*” (e successive modifiche). In pratica, oggi, non è più consentita l'esecuzione di procedure di Diagnosi Prenatale Invasiva in studi medici, ambulatori o poliambulatori medico-specialistici che non rispondano ai requisiti previsti per l'ambulatorio chirurgico.

Il tasso di aborto associato all'amniocentesi è di circa l'1%.

Nelle gravidanze gemellari il rischio abortivo è di poco superiore al prelievo singolo (tra l'1 e il 2%)



Un solo RCT (studio clinico controllato e randomizzato) su 4606 donne < 35 anni ha rilevato una percentuale di morti fetali superiore nelle donne sottoposte ad amniocentesi rispetto al gruppo di controllo (1.7% vs 0,7%, RR 2,3) . Studi più recenti documentano una progressiva riduzione del rischio negli ultimi venti anni, verosimilmente dovuta alla maggiore abilità degli operatori

Livello di evidenza I

Studi recenti indicano che, nel 10-50% degli aborti dopo amniocentesi si sono riscontrate infezioni di basso grado con incremento del livello di citochine nel liquido amniotico. Il rischio di infezione dopo amniocentesi è stimato da 1 a 2 ogni 3000 procedure

Livello di evidenza I

Una perdita di liquido amniotico si verifica nello 0.8-2% dei casi con un rischio aggiuntivo dell'1% rispetto ai controlli e si risolve spontaneamente nella maggior parte dei casi.

Dopo l'amniocentesi la donna può riprendere le sue normali attività. E' tuttavia considerata “buona pratica clinica” consigliare alla paziente di astenersi da attività fisica intensa (es. jogging o aerobica) per uno o due giorni



Danni fetali sono rari se l'esame è eseguito sotto guida ecografica. Sono stati riportati casi di lesioni cutanee di lieve entità da contatto con l'ago .

Livello di
evidenza I

Si raccomanda l'esecuzione di test plasmatici relativamente alle infezioni maggiori (es. Epatiti ecc.) .

B

Per quanto concerne la trasmissione verticale di infezioni materno-fetali durante la procedura, se la gestante è infetta e l'infezione è presente nel compartimento ematico l'infezione può passare dalla madre al feto

Livello di
evidenza
V/VI

Complicazioni minori possono essere la perdita continua di liquido amniotico, il sanguinamento, l'insorgenza di contrattilità uterina. Tali complicanze sono stimate nell'ordine dell'1-5% dei casi e in genere si risolvono spontaneamente. Si consiglia riposo a letto e monitoraggio ecografico più frequente se la perdita di liquido amniotico non cessa, mentre non è stata evidenziata utilità nell'uso di antibiotici .

Livello di
evidenza I

L'amniocentesi precoce non sembra essere una tecnica appropriata per la diagnosi prenatale di routine fra l'11a e la 12a sett.+6 gg di epoca gestazionale.

B

L'assenza di rischio dell'amniocentesi ad un'età gestazionale di 13-14 sett. non è stata ancora stabilita da trials randomizzati.

C

Livello di
evidenza I

Esiste uno studio randomizzato prospettico multicentrico canadese ¹¹che ha comparato l'amniocentesi precoce (11a-12a sett. + 6 gg) con quella del II trimestre (15a-16a sett. + 6 gg), evidenziando:7.6% vs 5.95% (p= 0.012) di perdite fetali post-procedura, parto pretermine e morti neonatali;1.3% vs 0.1% (p=0.0001) per quanto riguarda la presenza di piede equino; 3.7% vs 1.5% (p=0.0007) di perdita di liquido amniotico dopo la procedura; 1.8% vs 0.2% (p<0.0001) di fallimento dell'esame citogenetico con necessità di ulteriori tecniche invasive.

Non è stata segnalata una differenza significativa tra i due gruppi circa l'incidenza di distress respiratorio neonatale o di lussazione dell'anca.

L'esecuzione della villocentesi non è consigliata prima della 10a settimana di gestazione.

B

Un recente studio dell'OMS su 200 mila casi di villocentesi dopo la 10a settimana ha evidenziato che la villocentesi non è associata ad un rischio aumentato di anomalie fetali.

Livello di
evidenza II

Il rischio di aborto spontaneo fra donne in età avanzata, dopo che l'ecografia ha confermato una gravidanza vitale a 10 settimane di epoca gestazionale, è del 2-3% senza che la donna si sottoponga a procedura alcuna¹⁷.

La villocentesi aggiunge a questo rischio l'1-2% vs lo 0.5-1.0% dell'amniocentesi^{18,19,20}.

Il rischio di aborto, infine, raddoppia nella procedura transcervicale (3-6%)

Per quanto riguarda le malformazioni degli arti, il rischio è maggiore se la villocentesi si esegue prima della 9a

settimana (1.6% a 6-7 settimane, 0.1% a 8-9 settimane). Anche la gravità della malformazione è maggiore e correlata alla precocità dell'epoca gestazionale in accordo con la sequenza embriogenetica dello sviluppo degli arti che si conclude a 10 settimane di gestazione. Il rischio di anomalie degli arti e del volto dopo villocentesi è al massimo di 1/3000 feti

La perdita fetale che si osserva dopo cordocentesi è piu' alta di quella che si può avere dopo amniocentesi o prelievo dei villi coriali ed è direttamente correlata all'esperienza dell'operatore. Pertanto l'esecuzione della cordocentesi deve essere limitata a condizioni nelle quali non sono proponibili procedure meno invasive e riservato ad operatori di grande esperienza ed in Centri di riferimento.



La cordocentesi, se effettuata in epoca di possibile vitalità fetale, andrebbe effettuata in Centri di III livello e comunque dotati di strutture predisposte ad affrontare in modo idoneo l'eventuale insorgenza di travaglio di parto.

Il rischio di aborto spontaneo dopo cordocentesi, entro 2 settimane dalla esecuzione della procedura ed in gestanti a basso rischio, è di circa il 2%.

Livello di
evidenza
II/III

Il sanguinamento dalla sede di puntura del cordone ombelicale è la complicanza piu' comune dopo la cordocentesi ed è associato ad una maggiore incidenza di perdita fetale.

Livello di
evidenza
IV/V

La bradicardia fetale, definita come la presenza di una frequenza cardiaca inferiore a 100 bpm della durata di almeno 60 secondi, è una frequente complicanza della cordocentesi ed è associata ad un alto rischio di perdita fetale.

Livello di
evidenza
III

5. Scelta della metodica

La scelta della metodica da utilizzare nel praticare la Diagnosi Prenatale (villocentesi/amniocentesi/cordocentesi) si è storicamente basata sul calcolo costo/beneficio, dove il costo era rappresentato dal rischio di aborto ed il beneficio il risultato in termini di diagnosi da ricercare ed ottenibili

Attualmente si nota una progressiva riduzione del rischio di aborto (soprattutto nei Centri con maggiore esperienza) ed un enorme incremento delle possibilità diagnostiche (es: DNA).

Benché il rischio si sia ridotto rimane sempre evidente un maggior rischio della villocentesi rispetto all'amniocentesi. Tale differenza non si coglie nei Centri dove il rischio di aborto rimane elevato per entrambe le metodiche (6.3% versus 7%).

In alcuni Centri, dove comunque il rischio è piuttosto elevato per entrambe le metodiche, non si osservano differenze molto significative nelle percentuali di aborto

Uno studio recentissimo effettuato valutando le villocentesi eseguite in un arco di tempo compreso tra il 1998 e il 2003, afferma che il tasso di abortività post-procedura è notevolmente diminuito rispetto ai precedenti 20 anni (1.93% vs 3.12%) e, prendendo in considerazione anche l'età gestazionale, l'età materna e le indicazioni alla procedura, non sono state trovate differenze nella percentuale di aborti post-villocentesi e post-amniocentesi.

In letteratura non esiste unanime consenso nella scelta delle metodiche. E' comunque consuetudine pressoché unanime indirizzare alla villocentesi le gravidanze ad "alto rischio" di anomalie fetali ed all'amniocentesi quelle considerate a "basso rischio".

Livello di
evidenza V

Presenza di screening del I Trim. positivi, età materna avanzata, posizione favorevole della placenta, sono condizioni che orientano verso una diagnosi precoce mediante villocentesi.

C

Livello di
evidenza V

La presenza in anamnesi di malattia trasmissibile alla prole (es. entrambi genitori portatori di malattia autosomica recessiva, malattia X-linked, ecc) è considerata condizioni ad "alto rischio" e va indirizzata alla villocentesi.

A

L'accesso alle tecniche invasive è sempre subordinato alla scelta libera, consapevole ed informata da parte della gestante (legge n° 194, 22 maggio 1978).

A

La scelta della tecnica dipende dall'indicazione, dall'epoca di esecuzione del prelievo, dalla specifica esperienza dell'operatore e del laboratorio di riferimento e anche dalla preferenza della donna dettagliatamente informata.

B

A parità di condizioni è consigliabile utilizzare la tecnica meno invasiva e più precoce.

B

6. Consenso

Il consenso informato è l'accettazione che il Paziente esprime a un trattamento sanitario, in maniera libera e non mediata dai familiari, dopo essere stato informato sulle modalità di esecuzione, sui benefici, sugli effetti collaterali e sui rischi ragionevolmente prevedibili, sull'esistenza di valide alternative terapeutiche.

L'obbligo del consenso informato è sancito dalla Costituzione, dal Codice di Deontologia Medica e dalla Carta dei Diritti Fondamentali dell'Unione Europea.

(1) Artt. 13 e 32 della Costituzione della Repubblica Italiana:

1. **Art. 13** - La libertà personale è inviolabile. Non è ammessa forma alcuna di detenzione, di ispezione o perquisizione personale, né qualsiasi altra restrizione della libertà personale se non per atto motivato

dall'autorità giudiziaria e nei soli casi e modi previsti dalla legge. In casi eccezionali di necessità ed urgenza, indicati tassativamente dalla legge, l'autorità di pubblica sicurezza può adottare provvedimenti provvisori, che devono essere comunicati entro quarantotto ore all'autorità giudiziaria e, se questa non li convalida nelle successive quarantotto ore, si intendono revocati e restano privi di ogni effetto. È punita ogni violenza fisica e morale sulle persone comunque sottoposte a restrizioni di libertà. La legge stabilisce i limiti massimi della carcerazione preventiva.

2. **Art. 32** - La Repubblica tutela la salute come fondamentale diritto dell'individuo e interesse della collettività e garantisce cure gratuite agli indigenti. Nessuno può essere obbligato a un determinato trattamento sanitario se non per disposizione di legge. La legge non può in nessun caso violare i limiti imposti dal rispetto della persona umana.

- L'articolo 50 del **Codice Penale** stabilisce la non punibilità di chi lede un diritto, o lo mette in pericolo, con il consenso di chi può validamente disporne. Disattendere a questa norma può comportare il reato di lesioni personali (art. 582) o lesioni personali colpose (art. 590).

➤ L'articolo 1325 del **Codice Civile** sancisce l'obbligo dell'accordo tra le parti per il perfezionamento del contratto, accordo la cui carenza dà luogo a nullità del contratto stesso (art. 1418).

➤ Nella **Convenzione del Consiglio d'Europa**, invece, la materia è molto più dettagliata. In particolare il testo afferma: *“I desideri precedentemente espressi a proposito di un intervento medico da parte di un paziente che, al momento dell'intervento, non è in grado di esprimere la sua volontà saranno tenuti in considerazione”* (art. 9) e più avanti: *“Ogni persona ha il diritto di conoscere ogni informazione raccolta sulla propria salute. Tuttavia, la volontà di una persona di non essere informata deve essere rispettata”* (art. 10).

➤ Tornando all'Italia, le norme più esplicite e complete si ritrovano nel **Codice Deontologico del Medico**, la disciplina cui ogni professionista si deve attenere nell'esercizio della professione. Più precisamente in maniera molto dettagliata l'attuale Codice Deontologico sancisce l'obbligo di informazione al paziente (**art. 30**) o all'eventuale terzo (**art. 31**), nonché l'obbligo di acquisire il consenso informato del paziente (**art. 32**) o del legale rappresentante nell'ipotesi di minore (**art. 33**). Lo stesso Codice Deontologico stabilisce poi l'obbligo di rispettare la reale ed effettiva volontà del paziente (**art. 34**) nonché i comportamenti da tenere nell'ipotesi di assistenza d'urgenza (**art. 35**). Si può pertanto sostenere che sussiste un obbligo diretto, di natura deontologica, all'informazione al paziente, nonché all'acquisizione del consenso informato. Obbligo che, ove non ottemperato, potrebbe dar luogo di per sé, indipendentemente da eventuali danni in capo al paziente, all'apertura di procedimento disciplinare a carico del sanitario, avanti all'Ordine professionale competente.

Nel consenso informato devono essere riportate le seguenti informazioni:

- Risultati ottenuti con la procedura applicata
- Modalità e tempi di esecuzione

- Operatore che esegue la prestazione
- Standard di controllo della procedura
- Rischi correlati alla procedura, sia a livello nazionale che all'interno della struttura che esegue la procedura
- Analisi e stoccaggio del campione prelevato da parte del laboratorio operante all'interno della struttura
- Accuratezza dei test di laboratorio effettuati
- Percentuali di fallimento della coltura
- Tempi di risposta
- Metodi di comunicazione dei risultati
- Indicazioni in merito alle modalità di comportamento dopo l'esecuzione del test (inclusa la necessità di un colloquio con un medico specialista)
- Destino del campione biologico dopo l'esame, specificando il tipo di codificazione del campione ed il sistema di protezione della privacy utilizzato

La recente Cassazione (cfr. III Sez. Civ. 30 luglio 2004, n. 14638, RV 579325) stabilisce l'obbligo a riportare nel consenso informato con assoluta correttezza l'esatta esperienza dell'operatore ed il livello di competenza di chi opera, nonché tutte le specifiche sulle apparecchiature ed i metodi utilizzati.



Il consenso informato deve essere firmato prima di effettuare la procedura e archiviato insieme alla documentazione clinica.



7. Metodo

7.1 Procedura

La procedura deve essere eseguita in ambiente idoneo (ambulatorio chirurgico o Day Surgery) e con apparecchiature adeguate.



Prima dell'esecuzione della procedura si effettua un esame ecografico per valutare numero e vitalità dell'embrione/i-feto/i, rilevarne la biometria e quindi l'effettiva epoca gestazionale, localizzare il corion frondosum (per la villocentesi) o la placenta e scegliere il punto piu' idoneo per l'inserzione dell'ago.



Nel caso dell'amniocentesi, nel corso dell'esame ecografico propedeutico può essere effettuato anche uno studio piu' approfondito dell'anatomia fetale in relazione alla specializzazione del Centro.

Prima del prelievo si esegue una accurata disinfezione della cute addominale

A

Se non si utilizza una sonda ecografica sterilizzabile dopo ogni procedura o dotata di dispositivi monouso, può essere opportuno utilizzare un involucro sterile per la sonda ecografica ed una piccola quantità di gel sterile.

C

L'amniocentesi è associata ad un più alto tasso di successo nel prelievo e ad una minore percentuale di campioni contaminati da sangue (da 2.4% a 0.8%) se effettuata sotto guida ecografica diretta con la continua visualizzazione della punta dell'ago

B

Livello di
evidenza
IV/V

E' consuetudine cercare di evitare la puntura transplacentare per eseguire il prelievo del liquido amniotico.

Livello di
evidenza IV

Tuttavia esistono tre importanti studi, comprendenti oltre 2000 casi, che hanno dimostrato l'assenza di un aumento del tasso di abortività con l'utilizzo dell'approccio transplacentare .

L'approccio transplacentare può essere utilizzato se fornisce un piu' facile accesso ad una tasca di liquido amniotico, facendo attenzione ad evitare l'inserzione del cordone ombelicale.

B

L'inserzione dell'ago nella parte più vicina al fondo dell'utero determina una minore sensazione di dolore da parte della gestante.

B

Le donne che si sottopongono ad amniocentesi riportano una sensazione di lieve dolore o disagio; un aumento del dolore è associato ad ansia materna, ad una storia di dismenorrea, ad una precedente amniocentesi ed all'inserzione dell'ago nella parte bassa dell'utero.

La villocentesi dovrebbe essere eseguita sotto guida ecografica continua, sia per dirigere lo strumento verso il corion frondosum, sia durante l'aspirazione del materiale.

B

La villocentesi può essere eseguita con ago singolo o con doppio ago a seconda dell'esperienza dell'operatore .La differenza in termini di aborto non sembra modificarsi .

Livello di
evidenza III

Il diametro della guida dell'ago non dovrebbe essere superiore a 20 gauge (0.9 mm).

B

La temperatura dell'ago è ininfluyente ai fini di una maggiore o minore sensazione di dolore da parte della gestante.

D

Dopo l'esecuzione del prelievo si effettua un controllo ecografico dell'embrione/feto e della placenta.

C

7.2 Abilità dell'operatore

Un operatore esperto garantisce maggiori probabilità di successo del prelievo al primo tentativo e rischi minori di contaminazione ematica del campione prelevato.

Livello di
evidenza
III/IV

Operatori con grande esperienza possono avere una percentuale di successo piu' alta ed un minor tasso di abortività legato alla procedura.

B

Non esistono al momento attuale studi o dati che possano documentare in maniera scientifica il training e la curva di apprendimento necessari all'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva. Prima di eseguire in modo autonomo i prelievi, è necessario superare un periodo di training eseguendo un numero adeguato e documentato di villocentesi e/o amniocentesi con la supervisione di un senior tutor.

B

Livello di
evidenza
III/IV

Il numero minimo di procedure di diagnosi prenatale invasiva che devono essere eseguite per poter essere considerato "operatore esperto" è 50 per anno.

B

Quando le difficoltà di prelievo sono prevedibili, è considerata "buona pratica clinica" soprassedere al prelievo ed inviare la paziente presso un Centro e/o Operatore più esperto.

✓

Il modo migliore per verificare la competenza di un operatore e/o di un Centro è quello di effettuare audits continui in relazione a complicità quali la necessità di un secondo prelievo e il tasso di abortività.

7.3 Indicazioni e finalità

Le tecniche invasive devono essere consigliate alle donne che presentano un rischio più alto della media di anomalie cromosomiche o di malattie geniche.

Indicazioni agli esami sono:

- età materna > 35 anni
- un figlio precedente affetto da anomalia cromosomica
- genitore portatore di riarrangiamento strutturale dei cromosomi o familiarità per malattie genetiche
- diagnosi di sesso per malattie legate al cromosoma X
- familiarità per malattie congenite del metabolismo

- anomalie strutturali del feto all'esame ecografico
- test di screening positivo

Qualora non esista nessuna di tali indicazioni, durante il colloquio precedente l'esecuzione del prelievo la gestante deve essere esplicitamente edotta del fatto che, nel suo caso, non esistono indicazioni specifiche all'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva e che si sottopone alla procedura per sua scelta ed assumendosene tutti i rischi.

7.4 Controllo delle infezioni e delle contrazioni

Casi di sepsi severa, fino al decesso materno, sono stati riportati in seguito all'esecuzione di tecniche invasive di diagnosi prenatale.

Il livello di rischio non può essere quantificato poiché mancano grossi studi in proposito, tuttavia possiamo dire con una buona approssimazione che i casi di sepsi severa sono nell'ordine di meno di 1 caso su 1000 procedure.

E' considerata "buona pratica clinica" utilizzare una copertura sterile per la sonda o dispositivi monouso o sterilizzabili da applicare alla sonda stessa durante ogni procedura, così come l'utilizzo di gel sterile per ultrasuoni.



In caso di virus in fase attiva, è considerata "buona pratica clinica" evitare l'esecuzione di villocentesi e di amniocentesi transplacentare.



E' controverso se la diagnosi prenatale invasiva possa essere effettuata in donne portatrici di epatite B o C, giacché in alcuni studi non si registra evidenza di una aumentata trasmissione del virus, mentre in altri si segnala che la contaminazione materno fetale possa avvenire .



E' buona pratica clinica, nei casi sospetti, escludere la viremia attiva mediante ricerca genomica.

Livello di evidenza IV/V

La diagnosi prenatale invasiva deve essere evitata in donne affette dal virus dell'immunodeficienza acquisita (HIV).



Livello di evidenza IV/V

Nelle gravide a rischio di isoimmunizzazione Rh è opportuno effettuare, dopo il prelievo, la profilassi anti-D mediante iniezione di immunoglobuline.

Livello di evidenza I

Non esistono al momento attuale dati in favore dell'uso di profilassi antibiotica di routine per l'esecuzione di villocentesi ed amniocentesi; quest'ultima va invece effettuata se esistono fattori di rischio per corionamniotite .

Non vi è ragione di ritenere necessario l'uso di antibiotici routinari nelle villocentesi.

Tuttavia esistono numerosissimi studi che mostrano come la rottura prematura delle membrane post-amniocentesi sia correlata ad infezioni spesso asintomatiche, così come i casi, anche se rari, di shock settico e morte materna in seguito ad amniocentesi .

Alcuni Centri e/o Operatori esperti ritengono opportuno effettuare una profilassi antibiotica per l'amniocentesi.

B

L'uso di tocolitici è attualmente consigliato in caso di gestanti sintomatiche.

B

7.5 Condizioni particolari associate all'uso della Diagnosi Prenatale

La presenza di fibromi non controindica l'esecuzione dell'amniocentesi.

A

Uno studio italiano del 2004 afferma che, in caso di fibromatosi uterina, può essere utile evitare di eseguire la villocentesi in favore dell'amniocentesi

Nelle gravidanze multiple, le tecniche invasive di diagnosi prenatale andrebbero eseguite solo da Operatori esperti che sanno anche eventualmente trattare l'aborto selettivo.

✓

Nelle gravidanze gemellari bicoriali biamniotiche, sia nel caso di villocentesi che in quello di amniocentesi, si devono effettuare due prelievi, uno per ogni feto.

A

Nelle gravidanze gemellari monocoriali biamniotiche, a causa della sebbene rara possibilità di mosaicismo cellulare, si consiglia di effettuare esclusivamente l'amniocentesi, con prelievo da ognuno dei due sacchi amniotici.

A

In pazienti sottoposte a terapie epariniche o con antiaggreganti piastrinici è suggerita la sospensione del farmaco 24 ore prima dell'esame.

A

Le gestanti con incontinenza cervicale per le quali è stata indicata la opportunità di praticare il cerchiaggio cervicale dovrebbero essere sottoposte a tale procedura almeno una settimana prima dell'amniocentesi.

B

8. Organizzazione del servizio

La regolamentazione legislativa e le organizzazioni preposte al controllo devono accertarsi che il materiale, l'ambiente, il training del personale, le modalità di follow-up ed i collegamenti con i servizi preposti ad accogliere la donna in caso di interruzione di gravidanza o a supportarla nel caso di diagnosi di anomalia genetica o cromosomica, siano di standard sufficientemente elevato e vengano sottoposti a continui ed appropriati controlli di qualità.

9. Standard di controllo

E' auspicabile, ove possibile, effettuare un audit annuale dei prelievi effettuati per la diagnosi prenatale invasiva per operatore



Devono essere valutati: il numero dei tentativi di prelievo e gli eventuali insuccessi, le complicanze immediate, i fallimenti diagnostici, il numero e l'epoca degli aborti, le interruzioni volontarie di gravidanza, le anomalie congenite eventualmente presenti alla nascita.

Per facilitare tale processo sarebbe opportuno che ogni Centro avesse un registro delle procedure invasive effettuate.

Nome dei Revisori Esperti ed Approvatori:

Prof. Giuseppe Canzone(*V. Presidente Sieog Primario Ospedaliero Palermo Esperto della Materia*), Prof. Giancarlo Dolfin (*Primario Ospedaliero, Torino*), Prof. Giuseppe Ettore(*Primario Ospedaliero Catania Esperto della Materia*), Prof.ssa Marina Frontali (*Resp. Istituto di Neurobiologia e Medicina Molecolare del CNR*), Prof. Vincenzo Giambanco (*Esperto della materia*), Prof. Claudio Giorlandino(*Presidente S.I.Di.P. Esperto della Materia*), Prof. Giuseppe Giuffrida(*Primario Ospedaliero Catania Esperto della Materia*), Prof. Giuseppe Novelli(*Ordinario di Genetica Umana Un. Tor Vergata Roma **Revisore esterno***), Prof. Luigi Filippo Orsini(*Direttore Clinica Ginecologica- Ostetrica Az. Ospedaliera di Bologna*), Prof. Mario Pavoni(*Responsabile Diag. Prenat. Osp. Riuniti di Bergamo Esperto della Materia*), Prof. Pasquale Pirillo(*Primario Ospedaliero Az. Osp. Cosenza Esperto della Materia*), Prof. Paolo Scollo(*Primario Ospedaliero Az. Osp. Cosenza Esperto della Materia*), Prof. Andrea L. Tranquilli(*Ordinario di Ostetricia e Ginecologia, Univ. Politecnica delle Marche*), Prof. Herbert Valensise(*Associato di Clinica Ost/ Gin Un. Tor Vergata Roma*), Dott.ssa Marina Baldi, Dott.ssa Valentina Becciu(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sardegna Esperto della Materia*), Dott. Domenico Bizzoco (*Genetista, Resp. Tecnico reparto Citogenetica Artemisia Main Center Roma*), Dott. Luigi Caserta(*Delegato Regionale S.I.Di.P per il Lazio Esperto della Materia*)Dott. Stefano Cecchi(*Delegato Regionale S.I.Di.P. Per le Marche Esperto della Materia.*), Dott. Antonio Cianci(*Ordinario di Clinica Ost/ Gin. Un. Di Catania*), Dott. Pietro Cignini(*Delegato Regionale S.I.Di.P per il Lazio Esperto della Materia. **Estensore***), Dott. Claudio Coco(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Calabria Esperto della Materia*),Dott. Giancarlo Conoscenti(*Responsabile Diag. Prenat. Az. Osp. Cannizzaro Catania*), Dott.ssa Donata Delliponti(*Delegato Regionale S.I.Di.P per l'Umbria Esperto della Materia*), Dott.ssa Linda Ferraro(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sicilia Esperto della Materia*), Dott.ssa Rosita Fratto(*Delegato Regionale S.I.Di.P. Per l'Emilia Romagna Esperto della Materia*), Dott. Paolo Gentili (*Delegato Regionale S.I.Di.P per il Lazio Esperto della Materia; Resp.le Servizio di Diagn. Prenatale ASL- Roma*), Dott.ssa Alessandra Girgenti(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sicilia Esperto della Materia. **Estensore***), Dott.ssa Lucia Mangiafico(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sicilia Esperto della Materia*), Dott.ssa Giovanna Masala(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sardegna Esperto della Materia*), Dott. Alvaro Mesoraca(*Genetista, Resp. Della Sezione di Genetica Medica artemisia Main Center Roma*), Dott.ssa Adriana Panebianco(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Calabria Esperto della Materia*), Dott.ssa Zaira Ruggeri(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sicilia Esperto della Materia*), Dott.ssa Stefania Santeufemia(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Sardegna Esperto della Materia*), Dott. Fabio Sirimarco(*Primario Ospedaliero Napoli Esperto della Materia*), Dott. Vincenzo Spina(*Delegato Regionale S.I.Di.P per la Lazio Esperto della Materia*), Dott.ssa Emiliana Straziuso(*Delegato Regionale S.I.Di.P per il Molise Esperto della Materia, Dirigente Il livello Ospedale di Isernia*), Dott. Ernesto Tajani(*Primario Ospedaliero Terlizzi – Bari Esperto della Materia*), Dott.ssa Alessandra Tiezzi(*Delegato Regionale S.I.Di.P per l'Emilia Romagna Esperto della Materia. **Estensore***).

10. Bibliografia

1. Tabor A, Bang J, Norgaard-Pedersen B. Feto-maternal haemorrhage associated with genetic amniocentesis: results of a randomized trial. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1987; 94: 528-34
2. Romero R, Munoz H, Gomez R, et al. Two-thirds of spontaneous abortion/fetal deaths after genetic midtrimester amniocentesis are the result of a pre-existing subclinical inflammatory process of the amniotic cavity (abstract). *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:261
3. Wenstrom KD, Andrews WW, Tamura T, Du Bard MB, Johnston KE, Hemstreet GP. Elevated amniotic fluid interleukin-6 levels at genetic amniocentesis predict subsequent pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:830-3
4. D'Alton ME. Prenatal diagnostic procedures. *Semin Perinatol* 1994;18:140-62
5. Anandakumar C, Wong YC, Annapoorna V, Arulkumaran S, Chia D, Bongso A, et al. Amniocentesis and its complications. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1992;32:97-9
6. Eller KM, Kuller JA. Porencephaly secondary to fetal trauma during amniocentesis. *Obstet Gynecol.* 1995;85:865-7
7. Petrikovsky BM, Kaplan GP. Fetal responses to inadvertent contact with the needle during amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1995;10:83-5
8. The Canadian Early and Mid-Trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. Randomised Trial to assess safety and fetal outcome of early and mid-trimester amniocentesis. *Lancet* 1998;351:242-7
9. Wilson RD, Johnson J, Windrim R, Dansereau J, Singer J, Winsor EJT, et al. 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
10. Sundberg K, Bang J, Smidt-Jensen S, Brocks V, Lundsteen C, Parner J, et al. Randomized study of risk of fetal loss related to early amniocentesis versus chorionic villus sampling. *Lancet* 1997;350(9079):697-703
11. The Canadian Early and Midtrimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. *Lancet* 1998;351:242-7
12. JOCG Clinical Practice Guidelines. Canadian Guidelines for Prenatal Diagnosis. No 105, July 2001
13. Ville Y. How to improve the screening and diagnosis of fetal aneuploidy?. *Bull Acad Natl Med.* 2005 Nov; 189(8): 1773-84
14. Falcon O, Auer M, Gerovassili A, Spencer K, Nicolaidis KH. Screening for trisomy 21 by fetal tricuspid regurgitation, nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 11+0 to 13+6 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006 Feb;27(2):151-5
15. Hewitt BG, De Crespigny L, Sampson AJ, Ngu AC, Shekleton P, Robinson HP. Correlation between nuchal thickness and abnormal karyotype in first trimester fetuses. *Med J Aust.* 1996 Oct 7;165(7):365-8
16. Reddy UM, Mennuti MT. Incorporating first-trimester Down syndrome studies into prenatal screening: executive summary of the National Institute of Child Health and Human Development workshop. *Obstet Gynecol.* 2006 Jan;107(1):2-3
17. Wilson RD, Kendrick V, Wittmann BK, McGillivray B. Spontaneous abortion and pregnancy outcome following normal first trimester ultrasound. *Obstet Gynecol* 1986;67:352-5).
18. Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis Clinical Trial Group. Multicentre randomised clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. First Report. *Lancet* 1989;1(8628):1-6
19. Rhoades GG, Jackson LG, Schlesselman SE, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Eng J Med* 1989;320:609-63. *JOGC JULY 2001* 89
20. Medical Research Council Working Party on the Evaluation of Chorion Villus Sampling, Medical Research Council European trial of chorion villus sampling 1991. *Lancet* 1994;337:1491-9
21. Wilson RD, Johnson J, Windrim R, Dansereau J, Singer J, Winsor EJT, et al. The early amniocentesis study: a randomised clinical trial of early amniocentesis and midtrimester amniocentesis. II. Evaluation of procedure details and neonatal congenital anomalies. *Fetal Diagn Ther* 1997;12:97-101
22. Silver RK, MacGregor SN, Muhlback LH, Kambich MP, Ragin A. A comparison of pregnancy loss between transcervical and transabdominal chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1994;83:657-60
23. Chueh JT, Goldberg JD, Bohlferd MM, Golbus MS. Comparison of transcervical and transabdominal chorionic villus sampling loss rates in nine thousand cases from a single center. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1277-82
24. Aaron B, Caughey, Linda M, Hopkins, Mary E, Norton. Chorionic villus sampling compared with amniocentesis and the difference in the rate of pregnancy loss. *Obstet Gynecol*, vol.108, no.3, part 1, September 2006, 612-616
25. Froster-Iskenius UG, Baird PA. Limb reduction defects in over one million consecutive livebirths. *Teratology* 1989;39:127-35
26. Brambati B, Simoni G, Travi M, Danesino C, Tului L, Privitera O, et al. Genetic diagnosis by chorionic villus sampling before 8 gestational weeks: efficiency, reliability, and risks on 317 completed pregnancies. *Prenat Diagn* 1992;12:789-99
27. Froster UG, Jackson L. Limb defects and chorionic villus sampling: results from an international registry, 1992-94. *Lancet* 1996;347(9000):489-94
28. WHO/PAHO Consultation on CVS. Evaluation of chorionic villus sampling safety. *Prenat Diagn* 1999;19:97-9
29. Lubusky M, et al. Actual management of pregnancies at risk for fetal anemia. *Ceska Gynecol.* 2006 Jul;71(4):272-80

30. Wataganara T, et al. Noninvasive diagnosis of fetal anemia and fetal intravascular transfusion therapy: experiences at Siriraj Hospital. *J Med Assoc Thai.* 2006 Jul;89(7):1036-43
31. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med.* 2000 Jan 6;342(1):9-14
32. Imbar T, Lev-Sagie A, Cohen S, et al. Diagnosis, surveillance, and treatment of the anemic fetus using middle cerebral artery peak systolic velocity measurement. *Prenat Diagn.* 2006 Jan;26(1):45-51
33. Scheier M, et al. Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 May;23 (5):432-6
34. Detti L, Mari G, Akiyama M, Cosmi E, et al. Longitudinal assessment of the middle cerebral artery peak systolic velocity in healthy fetuses and in fetuses at risk for anemia. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Oct;187(4):937-9
35. Cosmi E, Mari G, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia resulting from parvovirus infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Nov;187(5):1290-3
36. Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153(6):655-660
37. Pardi G, Buscaglia M, Ferrazzi E, et al. Cord sampling for the evaluation of oxygenation and acid-base balance in growth-retarded human fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157:1221-1228
38. Ludomirsky A. Intrauterine fetal blood sampling- a multicentric registry: evaluation of 7462 procedures between 1987 and 1991. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:31
39. Crandon AJ, Peel KR. Amniocentesis with and without ultrasound guidance. *BrJ Obstet Gynaecol* 1979;86:1-3
40. Giorlandino C, Mobili L, Bilancioni E, D'Alessio P, Carcioppolo O, Gentili P, et al. Transplacental amniocentesis: is it really a high-risk procedure? *Prenat Diagn* 1994;14:803-6
41. Williamson RA, Varner MW, Grant SS. Reduction in amniocentesis risks using a real-time needle guide procedure. *Obstet Gynecol* 1985;65:751-5
42. Marthin T, Liedgren S, Hammar M. Transplacental needle passage and other risk-factors associated with second trimester amniocentesis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76:728-32
43. Backhouse S. Establishing a protocol for the cleaning and sterilisation/disinfection of ultrasound transducers. *BMUS Bulletin* 2003;11:37-9
44. Alexander JM, Ramus R, Jackson G, Sercely B, Wendel GD Jr. Risk of hepatitis B transmission after amniocentesis in chronic hepatitis B carriers. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999;7:283-6
45. Delamare C, Carbonne B, Heim N, Berkane N, Petit JC, Uzan S, et al. Detection of hepatitis C virus DNA (HCV DNA) in amniotic fluid: a prospective study. *J Hepatol* 1999;31:416-20
46. Davies G, Wilson RD, Desilets V, Reid GJ, Shaw D, Summers A, et al. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Amniocentesis and women with hepatitis B, hepatitis C, or human immunodeficiency virus. *J Obstet Gynaecol Can* 2003;25:145-52
47. Workman MR, Philpott-Howard J. Risk of fetal infection from invasive procedures. *J Hosp Infect* 1997 Mar;35(3):169-74
48. Thorp JA, Helfgott AW, King EA, King AA, Minyard AN. Maternal death after second trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2005 May;105(5 Pt 2):1213-5
49. Ayadi S, Carbillon L, Varlet C, Uzan M, Pourriat JL. Fatal sepsis due to *Escherichia coli* after second trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther.* 1998 Mar-Apr;13(2):98-9
50. Elchahal U, Shachar IB, Peleg D, Schenker JG. Maternal mortality following diagnostic 2nd trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther.* 2004 Mar-Apr;19(2):195-8
51. Tebes S, Zakhary AS, Spellacy W. *Escherichia coli* septic shock following second trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther.* 2005 Sep-Oct;20(5):463-4
52. Wurster KG, Roemer VM, Decker K, Hirsch HA. Amniotic infection syndrome after amniocentesis—a case report. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1982 Sep;42(9):676-9
53. GermanSweetman B, Considine J. Case review: septic shock in the pregnant patient. *Accid Emers Nurs.* 2004 Jul;12(3):141-8
54. Thabet NP, Thabet H, Zaghdoudi I, Brahmi N, Chelli H, Amamou M. Septic shock complicating amniocentesis. *Gynecol Obstet Fertil.* 2000 Nov;28(11):832-4. French
55. Plachouras N, Sotiriadis A, Dalkalitsis N, Kontostolis E, Xiropotamos N, Paraskevaides E. Fulminant sepsis after invasive prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol.* 2004 Dec;104(6):1244-7. Review
56. Kim KH, Jeong MH, Chung IJ, Cho JG, Song TB, Park JC, Kang JC. A case of septic shock and disseminated intravascular coagulation complicated by acute myocardial infarction following amniocentesis. *Korean J Intern Med.* 2005 dec;20(4):325-9
57. Shim SS, Romero R, Hong JS, Park CW, Jun JK, Kim BI, Yoon BH. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Oct;191(4):1339-45
58. Workman MR, Philpott-Howard J. Risk of fetal infection from invasive procedures. *J Hosp Infect.* 1997 Mar;35(3):169-74
59. Maye DP, Filthuth I, Pugin P, Waldvogel F, Herrman WL. Bacteriological study of amniotic fluid during labor. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1983;62(6):603-7
60. Figueroa R, Garry D, Elimian A, Patel K, Sehgal PB, Tejani N. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and

- intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005 Oct;18(4):241-7
- 61.Poutamo J, Keski-Nisula L, Kuopio T, Heinon S. Amniocentesis—a routine procedure, but invasive. *Prenat Diagn.* 2003 Sep;23(9):767-9
- 62.Giorlandino C, Gambuzza G, D'Alessio P, Santoro ML, Gentili P, Vizzone A. Blood contamination of amniotic fluid after amniocentesis in relation to placental location. *Prenat Diagn.* 1996 Feb;16(2):180-2
- 63.Giorlandino C, Bilancioni E, D'Alessio P, Muzii L., Risk of iatrogenic fetal infection at prenatal diagnosis. *Lancet.* 1994 Apr 9;343(8902):922-3.
- 64.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 Jul;82(1):49-56
- 65.Nagel HTC, Vandenbussche FPHA, Keirse MJNC, Oepkes D, Oosterwuk JC, Beverstock G et al. Amniocentesis before 14 completed weeks as an alternative to transabdominal chorionic villus sampling: a controlled trial with infant follow-up. *Prenatal Diagnosis* 1998;18(5) :465-75
- 66.Sundberg K. Potential and problems with ultrasound in fetal diagnosis at 10-11 weeks and amniocentesis at 12 weeks. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica Supplement* 1994;73(161) :SP31
- 67.Smidt-Jensen S. Randomised comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 1993;53:822
- 68.Smidt-Jensen S, Permin m, Philip J. Sampling success and risk by transabdominal chorionic villus sampling, transcervical chorionic villus sampling and amniocentesis: a randomized study. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1991;1:86-90
- 69.Harris A, Monga M, et al. Clinical correlates of pain with amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Aug;191(2):542-5
- 70.Salvador E, Bienstock J, et al. Leiomyomata uteri, genetic amniocentesis, and the risk of second trimester spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 May;186(5):913-5
- 71.Cavallotti D, Casilla G, et al. Early complications of prenatal invasive diagnostics: perspective analysis. *Acta Biomed Ateneo Parmense.* 2004;75 Suppl.1:23-6
- 72.Wax JR, Pinette MG, et al. Reducing pain with genetic amniocentesis-A randomized trial of subfreezing versus room temperature needles. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005 Oct;18(4):221-4
- 73.Gabbe. *Obstetrics – Normal and Problem Pregnancies, 4th ed., Copyright© 2002 Churchill Livingstone, Inc* pg 200