

Bölüm 26

PRENATAL İNVAZİV TANI YÖNTEMLERİ

Zeynep KAYAOĞLU YILDIRIM¹

Koryonik Villus Örneklemesi

Koryonik villus örnekleme (CVS), genellikle 10. gebelik haftasından sonra (11-14), prenatal genetik tanı için plasentanın örneklendiği bir prosedürdür. CVS sonuçları, amniyosentez sonuçlarından daha erken gebelik haftalarında elde edilebildiğinden endişeli bekleme süresini kısaltır. CVS sonuçlarına göre gebeliğin sonlandırılması kararı verilirse, sonlandırma riskinin daha düşük olduğu erken gebelik haftalarında (ikinci trimester ortası gibi) sonlandırma gerçekleştirilebilir. Ancak CVS sonuçları, amniyosentezden daha yüksek tanısal belirsizliğe sahiptir ve prosedür, ikinci trimester amniyosentezinden daha az güvenli olabilir.

Endikasyonlar

CVS ile sitogenetik, biyokimyasal/moleküler veya DNA analizi ile tanısı mümkün olan herhangi bir durumun doğum öncesi teşhisi sağlanabilir. Amerikan Obstetrisyenleri ve Jinekologlar Topluluğuna göre yaş veya riskten bağımsız olarak tüm hastalar için invaziv tanı testleri yapılabilir olmalıdır [1].

Prenatal genetik tanı için en yaygın nedenler şunlardır [2]:

- Tahmini doğum tarihinde anne yaşının 35 veya üzerinde olması
- Birinci trimester ultrason muayenesinde konjenital anomali varlığı
- Önceki çocukta kromozom anormalliği veya genetik bozukluğun var olması
- Anöploidi taramasında anormal sonuçların (sonografik belirteçler olsun veya olmasın serum parametrelerindeki anormallik veya anormal cell free fetal dna analiz sonuçları) varlığı
- Annenin X e bağlı hastalık taşıması
- Ebeveynlerden birinin dengeli bir translokasyon veya başka bir yapısal kromozomal bozukluk taşıyor olması
- Ebeveynlerden birinin, monogenik bir bozukluk taşıması
- Her iki ebeveynin de otozomal resesif bir hastalık taşıması

¹ Dr., Perinatoloji Yandal Asistanı, Çam ve Sakura Şehir Hastanesi drkayaoglu@hotmail.com

Kontrendikasyonlar

Maternal alloimmünizasyon, CVS için göreceli bir kontrendikasyondur, çünkü işlem sırasında olabilecek fetomaternal kanama, maternal antikor yanıtını artırabilir ve bu da daha şiddetli fetal eritroblastoz ile sonuçlanabilir [3]. Rahim içi araç yerinde ise CVS'den kaçınılır, ancak bu nadirdir. HIV, hepatit B ve C gibi maternal enfeksiyonların dikey geçiş riski olmakla birlikte geçiş viral yük ile ilişkilidir.

Alternatifler

Amniyosentez, CVS'ye bir alternatiftir. Prosedür seçimi, hastanın her bir tekniğin risk ve faydaları hususunda kişisel değerlendirmesine bağlıdır. CVS sonuçları (fetal karyotip), amniyosentez sonuçlarına göre 4-6 hafta daha erken gebelik haftasında edinilebilir. Doğum öncesi tanı için amniyosentez, ilk trimesterde (erken amniyosentez: tipik olarak gebeliğin 11 ila 13. haftasında, ancak 15 haftadan önce) yapılabilir de erken amniyosentez, CVS den daha fazla fetal kayıp ve komplikasyon riski taşıdığından tercih edilmez. CVS de 2.trimester amniyosentezinden daha yüksek bir fetal kayıp ve tanısız belirsizlik riski vardır.

CVS, genellikle üçüncü basamak tıp merkezlerinde veya prenatal tanı konusunda uzmanlaşmış merkezlerde ultrason rehberliği ile gerçekleştirilen ayaktan bir prosedürdür. Yetkinliği sürdürmek için yıllık olarak yapılması gereken prosedürlerin sayısı belirsizdir; RCOG yılda en az 30 prosedür önermektedir [4]. Uzmanlığın genellikle 250 prosedürden sonra elde edildiği düşünülmektedir [5].

CVS Prosedür

CVS tipik olarak gebeliğin 10 ila 13. haftaları arasında gerçekleştirilir. Spontan gebelik kayıplarının çoğu 10. Gebelik haftasına kadar gerçekleşmiş olduğundan ve gebeliğin çok erken döneminde yapılması halinde ekstremite redüksiyon kursurları riskinin artması nedeniyle CVS, gebeliğin 10. haftasına kadar ertelenir. CVS 14 gebelik haftası ve sonrasında yapılabilir ancak teknik olarak daha kolay olduğundan ve sınırlı plasental mozaisizm ile ilgili tanısız belirsizliği ortadan kaldırdığından, ≥ 15 gebeliklerde amniyosentez tercih edilir.

CVS den önce embriyo sayısını (çoğul gebeliklerde koryonisiteyi de) belirlemek, fetal canlılığı belgelemek ve fetal yapısal anomalileri taramak için ultrason muayenesi yapılmalıdır. CVS sırasında akustik bir pencere sağlamak için anne mesanesi boş olmamalıdır. Teknik olarak koryonik doku transabdominal (TA-CVS) veya transservikal (TC-CVS) olarak alınabilir. Operatör tercihi genellikle karara rehberlik etse de plasenta yerleşim yeri prosedürlerin yüzde 5 inden fazlasında bir yaklaşımı diğerine tercih ettirir [6,7]. Daha az fetal kayıp, daha düşük kanama ve enfeksiyöz komplikasyon riski, daha düşük çoklu iğne girişi, ilk denemede daha

yüksek örnekleme başarı oranı ve daha az anne hücre kontaminasyonu ile ilişkili olduğu için TA-CVS'nin genellikle TC-CVS'ye tercih edildiği düşünülmektedir [6,8-10]. TA-CVS ile fundal plasentadan örnek almak daha kolaydır. Uterus ciddi şekilde retrofleks olduğunda veya plasenta posteriorda olduğunda ise TC-CVS, TA-CVS'den daha kolaydır. TC-CVS avantajları ise anneyi daha az rahatsız etmesi ve daha az fetomaternal kanama olmasıdır [11]. Vajinismus, servikal stenoz, servikal polipler ve miyomlar ve fundal plasentaya erişimi engelleyen alt uterin segment miyomları TC-CVS'nin zorlaştırır. Uterusun şiddetli antefleksiyon veya retrofleksiyonu, TC-CVS de plasentayı kateter için erişilemez hale getirebilir.

TA-CVS de, transabdominal ultrasonografi ile plasenta lokalize edilir ve hastanın alt karın bölgesi antiseptik solüsyon ile silinir. 19 ila 20 gauge iğne, plasentanın uzun eksenini boyunca nüfuz etmesine izin verecek bir açıyla ilerletilir. Stile çıkarılır, iğne enjektör tutucuya monte edilir. Enjektörde oluşturulan vakumla yeterli bir numune aspire edilinceye kadar iğne ucu plasenta içinde ileri geri hareket ettirilir. Numune alma sistemi daha sonra negatif basınç altında geri çekilir. İçerik, bir plastik doku kültürü tabağına püskürtülür ve mikroskopta değerlendirilir.

Transservikal koryonik villus örneklemesinde, hasta litotomi pozisyonuna getirilir, dış ve iç genital organları antiseptik bir solüsyonla hazırlanır ve vajinaya bir spekulum yerleştirilir. Tek dişli bir tenakulum veya halka forseps ile serviksın ön dudağı kavranıp operatöre doğru hafifçe çekilerek uterus daha kolay ulaşılabilir hale getirilebilir. Uterin anteversiyon fazla ise, mesaneyi doldurmak endoservikal kanal ile uterus ön duvarı arasındaki açığı düzeltmeye yardımcı olabilir. Transabdominal ultrason görüntülemesi altında, metal bir sonda ile endoservikal kanalın seyri ve eğriliği değerlendirilir. Transservikal kanül benzer bir eğri oluşturacak şekilde bükülür ve ardından ultrason rehberliğinde kanaldan plasentaya yerleştirilir. Kanülün obturatörü çıkarılır ve katetere 20 mL'lik medyum içeren bir şırınga takılır. Kateter plasenta içinde ileri geri hareket ettirilirken koryonik villuslar aspire edilir. Yeterli parça alındıktan sonra, enjektör negatif basınç altında tutulurken kateter geri çekilir. Plasental örnek alamada biyopsi forsepsinin kullanıldığı ikinci bir transservikal teknik de mevcuttur [12,13]. TC-CVS için farklı yöntemleri karşılaştıran randomize çalışmaların sistematik bir incelemesinde, kanülle aspirasyon, forsepsle biyopsiden daha yüksek yetersiz numune riski ile ilişkilendirilmiştir ancak düşük oranlarında fark izlenmemiştir [12].

CVS prosedüründe değerlendirme için en az 5 mg villus dokusu gereklidir. Eğitimli bir asistan, mikroskop ile hızlı bir şekilde numune yeterliliğini, elde edilen numunenin kalitesini değerlendirebilir ve koryonik villusları seçebilir. Örnekte çok miktarda kan varsa, kan pıhtılarına villus eklenmesini önlemek için kan derhal temizlenmelidir. Kan pıhtıları çıkarılır ve diseksiyon mikroskobu altında

forseps ile villuslar maternal desiduadan ayrılır ve temizlenen villuslar uygun bir ortama aktarılır [14].

Koryonik villus, sinsiyo trofoblast hücreleri, sitotrofoblast hücreleri ve mezenkimal hücrelerden oluşur. Yüksek mitotik indekse sahip ve metafazda değerlendirilebilen sitotrofoblastın doğrudan incelenmesiyle (doğrudan yöntem) işlem sonrası 2 ila 48 saat içinde hızlı karyotipleme gerçekleştirilebilir. Mezenkimal hücreler plasental genotipten ziyade fetal genotipi daha iyi yansıttığından, eş zamanlı olarak mezenkimal hücrelerin de uzun süreli (bir haftalık) kültürleri yapılmalıdır. Anne kanında cell free nükleik asitlerin test edilmesinden elde edilen olumsuz bir sonuç nedeniyle CVS yapıldığında mezenkimal hücre kültürü özellikle önemlidir, çünkü bu nükleik asitler aynı zamanda sitotrofoblasttan da kaynaklanır. Kültür lenmiş hücreler üzerinde geleneksel karyotip veya mikrodizi analiz gerçekleştirilir. Gerekliğinde biyokimyasal ve moleküler genetik analizler de yapılabilir.

Çoğul Gebeliklerde CVS

CVS'den önce çoğul gebeliklerin koryonisisitesi sonografik olarak belirlenmelidir çünkü koryonisisite sayısı alınması gereken numune sayısı ile koreledir. Bu hastalarda fetoplasental ilişkinin doğru haritalanması, gebeliğin sonraki dönemlerinde seçici sonlandırmanın doğru uygulanabilmesi için de kritik öneme sahiptir.

İkizlerde CVS, TA, TC veya kombine yaklaşım kullanılarak gerçekleştirilebilir (bir ikiz için TA, diğeri için TC).

Monokoryonik ikizlerin varlığında sadece tek bir numune yeterlidir. Ayrı plasentalar varsa, prosedür tekil gebelik için yapılan CVS'ye benzer. Plasentalardan birinin önde ve diğerrinin arkada olduğu durumlarda ikiz-ikiz kontaminasyonunu önlemek için kombine TA-CVS ve TC-CVS gerekli olabilir. TA yaklaşım ile arka plasentaya erişim, ön plasentadan geçmeyi gerektiriyorsa, TC-CVS kullanılmalıdır. Plasentaların füzyon halinde olması durumunda ikiz gebelik dikoryonik veya koryonisisite belirsiz ise, aynı fetüsü iki kez örnekleme olasılığını en aza indirmek için iğnenin ucu göbek kordonunun girişine yakın veya plasenta füzyon alanından uzağa yerleştirilmelidir. İğne, diğeri ikizin plasentasına ulaşmak için bir ikizin plasentasından geçmemelidir. Sitogenetik sonuçlar ve DNA polimorfizmi, örnekler arası farklılığa yol açabilir. Bununla birlikte, sonuçlar aynıysa ve koryonisisite belirsizliğini koruyorsa, her bir fetüsün örneklendiğinin doğrulanması tavsiye edilir; bu, hamileliğin ilerleyen dönemlerinde amniyosentez ile sağlanabilir. Vakaların yüzde 6 kadarında amniyosentez gerekir [15-16].

Çoğul gebeliklerde, bir fetüsün iki kez örneklenmesi, karışık örnekleme nedeniyle çapraz kontaminasyon ve maternal hücre kontaminasyonu gibi belirsiz sonuçlar CVS de amniyosentezden daha sık görülür. Örnekleme hatası riski ikiz

gebelikte küçüktür (%0,6-0,8) [15-18]. Üçüz ve daha çok fetüs taşıyan gebeliklerde bu risk (%1,2) daha yüksektir [19]. Her şeye rağmen CVS, sonuçların patolojik saptanması durumunda, daha erken selektif fetal redüksiyon avantajı sunar.

CVS Sonrası Bakım

Hastalar işlemden sonra normal fiziksel aktiviteye devam edebilir. Genellikle 24 saat boyunca yorucu aktivitelerden ve cinsel ilişkiden kaçınmaları önerilir. Lekeleme vasfı kanama normal olmakla birlikte, sürekli kanama, ağrı, ateş varlığında hastaneye başvuru gerekliliği hastalara anlatılmalıdır.

Komplikasyonlar

CVS'nin en ciddi komplikasyonları fetal kayıp veya fetal yaralanmadır. Kanama ve enfeksiyon CVS sonrası görülebilecek diğer problemlerdir.

-Fetal Kayıp: CVS, amniyosentezden yaklaşık 4-6 hafta önceki gebelik haftasında yapıldığından, CVS sonrası spontan kayıp oranını amniyosentez sonrası kayıp ile karşılaştırmak, CVS'nin amniyosentezden daha yüksek bir kayıp oranıyla sonuçlanıp sonuçlanmadığını belirlemek için uygun bir yöntem değildir. CVS'nin gerçekleştirilmesi ile amniyosentezin yapılması arasındaki gebelik süresinde meydana gelen spontan kayıplar CVS uygulanan hastalarda olası CVS ile ilgili kayıplar olarak değerlendirileceğinden böyle bir karşılaştırma doğru olmaz.

30 yıldan fazla bir süre önce gerçekleştirilen randomize çalışmalardan elde edilen kanıtların çoğu, CVS'nin amniyosentezden daha yüksek oranda fetal kayıp ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir [20,21]. Bahsi geçen aşırı risk, amniyosentezden [22-25] ve transabdominal (TA)-CVS'den daha riskli olan transservikal (TC)-CVS ile sınırlı görünmektedir [20,26-29]. TA-CVS ve amniyosentez benzer fetal kayıp oranları ile ilişkili görünmektedir [21,22]. TC-CVS sonrası yüksek fetal kayıp riski, çalışmalar arasındaki önemli heterojenite nedeniyle dikkatle yorumlanmalıdır [20].

CVS komplikasyonları üzerine 16 kohort çalışmasının sistematik bir incelemesi, TA-CVS'den sonraki 14 gün içinde toplam fetal kayıp oranlarını %0,7 hesaplamıştır [29]. Karşılaştırıldığında, amniyosentezden sonraki 14 gün içinde toplam fetal kayıp oranı %0,6 idi. Fetal kayıp riskini analiz eden geniş bir ulusal kohort çalışmasında, ilk üç aylık kombine tarama ya ek olarak TA-CVS veya amniyosentez uygulanan hastalarda, tek başına ilk üç aylık kombine tarama uygulanan hastalarla karşılaştırıldığında benzer düşük veya ölü doğum oranları saptandı [30].

Uygun bir kontrol grubunun önemi kritiktir. Birinci trimester kombine taraması yapılan 22.000'den fazla hastayı içeren bir kohort çalışmasında, CVS uygulanan hastalarda (3613 hasta) düşük yapma riski, prosedür uygulanmayan has-

talardan yaklaşık yüzde 1 daha yüksekti (%2.1'e karşı %0.9); bu aşırı risk, belirli demografik ve gebelik özelliklerinden, özellikle anöploididen etkilenmiştir [31]. Anöploidi riski düşük olan hastalarda, CVS sonrası düşük riski arttı ve anöploidi riski yüksek olanlarda CVS sonrası düşük riski paradoksal olarak azaldı. Bu ters ilişkinin zaten spontan düşükle sonuçlanacak olan majör anöploidili gebeliklerin sonlandırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu risk faktörleri hesaba katılıp, analizi düşük riskli gebeliklerle sınırladıktan sonra CVS, düşük riskini yaklaşık üç kat artırdığı izlendi (%0,1'den 0,3'e artış). Bu göreceli olarak önemli bir artış olmasına rağmen, mutlak anlamda küçük kalmaktadır. Cell free dna uygulaması fetal kayıp riskini çok azalttığından cvs uygulamaları giderek azalmakta ve operatörlerin prosedüre bağlı fetal kayıp oranlarını etkileyebilecek uygun teknik becerileri öğrenmesi ve sürdürmesi zor hale gelmektedir [29,32].

Örnekleme tekniğinin etkisine ek olarak:

- İşlem sırasındaki gebelik yaşına göre küçük fetus
- Yeterli doku elde etmek için numune alma cihazının tanıtılma sayısı
- Biyopsi forsepsi yerine transservikal kanül kullanımı
- Operatör becerisi ve deneyimi
- Yardımcı üreme teknikleri sonrası gebelikler

fetal kayıpta rol oynayan diğer faktörler olarak öngörülmüştür [29,32-34]

Perinatal kayıp: CVS'den (TC veya TA) sonra kümülatif perinatal ölüm hızı (PNM), amniyosentezden (1000 canlı doğumda 7'ye karşı 6) önemli ölçüde yüksek değildir [20].

Yukarıda belirtilen çalışmalardan sadece biri, amniyosentez ile karşılaştırıldığında CVS uygulanan hastalarda %4,6 daha düşük olan canlı doğan bebek oranını tanımlamıştır (%86'ya karşı %91, $p < 0.01$) [23].

Teşhis belirsizliği ve yanlış tanı: CVS ile yanlış negatif oranı son derece düşüktür (62.000'den fazla prosedürden oluşan bir seride yüzde 0.03 [35]); bu nedenle, CVS normalse veya mozaik karyotip doğrudan trofoblastik hücreler ile sınırlıysa ve uzun süreli kültürler (yani mezenkimal hücreler) normal kromozomal yapıdaysa, hastalara etkilenmemiş bir fetus konusunda güvence verilebilir. Buna karşılık, mezenkimal hücrelerde mozaik karyotip bulunduğu yanlış pozitif testi ekarte etmek için amniyosentez yapılmalıdır. Koryon villus örneği hem kısa süreli sonuçları hem de uzun süreli kültürleri birlikte çalışmak için yetersizse, uzun süreli kültür doğrudan bir hazırlıktan daha güvenilir görünmektedir [36]. Takip örneklerine duyulan ihtiyaç, CVS'de amniyosentezden [20] daha yüksektir çünkü belirlenmiş karyotipin fetal genotipi yansıttığı kesinliği CVS ile daha düşüktür [37]. Amniyositlerden (amniyotik sıvıda yüzen hücreler) elde edilen normal sonuç, normal bir fetal karyotipi doğrular.

Örnek Alamama

Genel olarak, CVS prosedürü amniyosentezden daha fazla örnekleme başarısızlığına sahiptir (%1,6'ya karşı %4,8) [20]. Çalışmaların çoğunda örnekleme başarı oranı, üçten daha az yerleştirmeden sonra en az yüzde 99'dur ve TC-CVS ile TA-CVS için farklı değildir. Bununla birlikte, ilk denemedeki örnekleme başarı oranı, TA-CVS ile TC-CVS'den önemli ölçüde daha yüksektir [22]. Ayrıca, TC-CVS, TA-CVS veya amniyosentezden önemli ölçüde daha fazla çoklu yerleştirme ve ikinci test ihtiyacı ile ilişkilidir [20]. Sitogenetik analiz için TC-CVS, amniyosentezden daha fazla laboratuvar başarısızlığına sahiptir (TA-CVS ve TV-CVS arasında veya TA-CVS ile amniyosentez arasında karşılaştırma mevcut değildir).

Maternal Hücre Kontaminasyonu

Anne kontaminasyonu CVS'de amniyosentezden daha sıktır (%3,8'e karşılık %0,3) [20]. Doğrudan hazırlama yönteminin, uzun süreli kültüre göre maternal hücre kontaminasyonu nedenli yanlış tanı riski daha düşüktür, çünkü maternal desidia düşük mitotik indekse sahiptir.

Plasentaya Sınırlı Mozaisizm

Plasentaya sınırlı mozaisizm, plasantanın genotipi ile embriyo/fetüsün genotipi arasındaki uyumsuzluğu ifade eder. CVS, amniyosentezden daha yüksek sınırlı plasental mozaisizm riskine sahiptir (%2,3'e karşı %0,4,) [20]. CVS'de mozaisizmin hem tanısal hem de prognostik etkileri vardır çünkü plasental fonksiyon etkilenecek düşüğe, fetal büyüme kısıtlamasına, fetal ölüme veya ölü doğuma [38] neden olabilir. Mozaisizm CVS örneklerinin yüzde 1 ila 2'sinde tanımlanmıştır, ancak bu vakaların yalnızca yüzde 11 ila 13'ünde fetüste doğrulanmıştır [35,37,39-42]. Gerçek fetal mozaisizmde, mezenkimal çekirdek kültürü de mozaisizmi ve ilgili kromozom anormalliğini içerir.

Plasentaya sınırlı mozaisizmden, mitoz sırasında morulada anormal bir hücre dizisinin oluşumuna yol açan postzigotik ayrılmama ya da mayotik hata sonucu oluşan anormal hücre grubunun postzigotik düzeltilmesi veya kurtarılması sorumludur. Her iki durumda da hem anormal hem de normal hücre dizileri morulada bulunur.

3 tip plasental mozaisizm izlenir: Tip 1 plasental mozaisizmde mozaik hücreler sitotrofoblastla sınırlıdır; tip 2 plasental mozaisizmde mozaik hücreler mezodermal villus stroması ile sınırlıdır; tip 3 plasental mozaisizmde mozaik hücreler hem sitotrofoblast hem de mezodermal villus stromasını içerir [43]. Tip 1 plasenta mozaisizmi en yaygın olanıdır, neredeyse hiçbir zaman gerçek bir fetal anormallik içermez ve genellikle iyi bir gebelik sonucu ile ilişkilidir. Tip 2 ve 3 ün gerçek

bir fetal kromozomal anormallikle ilişkili olma olasılığı daha yüksektir. Fetusun etkilenip etkilenmediğini ilgili kromozomun hangisi olduğu belirler. 13, 18, 21. kromozomlarda veya bir cinsiyet kromozomunda anöploidisi saptanması hemen hemen her zaman sitogenetik olarak anormal bir fetüs ile ilişkilidir; 2, 3, 7 veya 8. kromozomların anöploidisi genellikle bir öploid fetüs ile ilişkilidir. Mesela kromozom 16 veya tetraploid içeren tip 2 veya 3 plasental mozaikizm varlığında, yüksek fetal büyüme kısıtlaması ve fetal ölüm riski görülmüştür [44-47]. Herhangi bir kromozomun mozaik olması uniparental dizomi ile ilişkili olabilir, ancak bu klinik olarak yalnızca 7, 11, 14 ve 15 kromozomlar dahil olmak üzere damgalanmış gen bölgelerine sahip kromozomlar için önemlidir [48].

Uzuv Redüksiyon Kusurları ve Oromandibular Hipogenez

CVS 9 haftadan önce yapıldığında enine uzuv anormalliklerinin oranının arttığı bildirilmiştir ve bu risk prosedürde kullanılan teknikten, operatörün tecrübesinden, kullanılan iğne veya kanülün ölçüsünden bağımsızdır [49-52]. Risk, ilerleyen gebelik yaşı ile düşer ve ≥ 11 gebelik haftasında normal popülasyon oranına yaklaşır [53].

Kanama

Hastaların 1/3 inde CVS sonrası vajinal lekelenme bildirilmektedir [35]. TC-CVS prosedürlerinin %7-10'unda ve TA-CVS prosedürlerinin %6'sından daha azında daha kalıcı kanama meydana gelir [6,20,23].

Enfeksiyon

Klinik olarak belirgin enfeksiyöz komplikasyonlar nadir olarak bildirilmiştir [33,54,55]. Klinik veya subklinik intrauterin enfeksiyon fetal kayba neden olabilir. TC kateter servikovajinal flora tarafından kontamine olabilir; TA kateter, cilt florası tarafından veya bağırsak delinmesinin bir sonucu olarak kontamine olabilir. Hepatit virüsü, sitomegalovirüs, toksoplazmoz ve HIV gibi enfeksiyonların anneden bebeğe bulaşması da CVS sırasında ortaya çıkabilir. İşlem sırasında yüksek düzeyde aktif antiretroviral tedavi (HAART) alan hastalarda HIV'in dikey geçişi vakası bildirilmemiştir [56,57].

Fetomaternal Kanama

CVS'yi takiben maternal serum alfa-fetoprotein artışı, fetomaternal kanama olduğunun göstergesidir. CVS'den sonra, MSAFP çok yüksek olması veya yükselmeye devam etmesi, bir fetal kayıp nedeni olarak görülür [11]. Fetal kanın maternal dolaşıma salınması izoimmünizasyona da neden olabileceğinden RhD-negatif hastalar işlem sonrası anti-D Rh immüno globulin almalıdır. CVS ile ilişkili fe-

tomaternal kanama, immunize hastalarda maternal immün yanıtı artırabilir ve erken, şiddetli eritroblastoz fetalise yol açabilir [3]. MSAFP seviyeleri, gebeliğin 16 ila 18. haftalarında başlangıç seviyelerine düşmelidir [2].

TA-CVS, TC-CVS'den daha yüksek bir 3 fetomaternal kanama riski ile ilişkilidir [11].

Zarların Yırtılması

Zarların akut yırtılması CVS de nadirdir. Vakaların %0,3'ünde CVS den günler-haftalar sonra membranların gecikmeli rüptürü izlenmiştir [55,58].

CVS ile gebelik komplikasyonları (fetomaternal kanama dışında) ve olumsuz sonuçlar arasında ilişki kanıtlanmamıştır. Randomize çalışmalar, CVS'den sonra amniyosentezden daha yüksek erken doğum oranları olduğunu göstermektedir (RR 1.3, %95 CI 1.1-1.6) [20]. 3346'sı plasental dekolman ile komplike olmuş 887.439 doğumu içeren bir Finlandiya çalışmasında, dekolman hastalarında CVS maruziyetinin daha sık olduğu saptanmıştır (OR 1.48, %95 GA 1.12-1.96) [59]. Bazı çalışmalar CVS geçirmenin preeklampsi preeklampsi geliştirme riskinin artışıyla ilişkili olduğunu bildirirken [60-62], bazıları bu ilişkiyi gözlemlememiştir [63,64]. 1509 TC-CVS hastasında, ikinci trimester amniyosentez yapılan kontrol hastalarıyla karşılaştırıldığında, konjenital malformasyon, neonatal morbidite, hastaneye yatış gerektiren pediatrik morbidite, ayakta tedavi, fonksiyonel bozukluk ve fetal gelişim geriliğinde artış saptanmadı [65]. CVS'ye maruz kalanların ve kalmayanların karşılaştırıldığı 35-49 yaş arası gebelerin değerlendirildiği bir kohort çalışmasında, fetüs ve bebek ölümlerinde, prematüritede, düşük doğum ağırlığında, güven vermeyen fetal durumda artış izlenmedi [66].

Amniyosentez

Amniyosentez, transabdominal yoldan bir iğne kullanılarak amniyotik sıvının çekilmesiyle gerçekleştirilen tanı tekniğidir. Amniyotik sıvı büyük ölçüde fetüs kaynaklı partiküllerden (idrara, salgılar, pul pul dökülmüş hücreler ve transüda) oluştuğundan, fetüsün sağlığını değerlendirmek için yapılan testlerde amniyotik sıvı kullanılabilir

Endikasyonlar

Amniyotik sıvı elde etmek için en yaygın tanı endikasyonları doğum öncesi genetik çalışmalardır. Fetal enfeksiyonun tespitinde, hemolitik aneminin derecesinin belirlenmesi, fetal kan grubu ve trombosit tipinin belirlenmesinde, hemoglobinopati varlığının değerlendirilmesi ve nöral tüp defektlerinin saptanmasında amniyosentez kullanılır. Eskiden amniyosentez için yaygın bir endikasyon olan fetal

akciğer olgunluğunun değerlendirilmesi artık nadiren yapılmaktadır. Amniyosentez ayrıca fazla amniyotik sıvıyı uzaklaştırmak için veya ikinci trimesterde fetal membranların prolabe olduğu serklaj planlanan hastalarda amniyotik sıvının hacmini ve basıncını azaltmak için terapötik bir prosedür olarak da kullanılabilir [67]. Bu prosedür amniyoreduksiyon olarak adlandırılır.

Teknik Hususlar

Prenatal genetik çalışmalar için amniyosentez, 11. Gebelik haftasından sonra teknik olarak mümkündür, ancak optimal olarak 15+0 ila 17+6 gebelik haftalarında yapılır. 15 haftadan önce gerçekleştirilen prosedürler (yani, erken amniyosentez), daha yüksek fetal kayıp ve kültür başarısızlığı dahil artmış komplikasyon oranları ile ilişkilidir [68]. 18 hafta sonrası ikinci trimester prosedürleri güvenlidir. Fetal anormalliklerin gestasyonun sonlarında keşfedilmesi gibi bazı durumlarda genetik değerlendirme amaçlı geç ikinci ve üçüncü trimester prosedürleri gerçekleştirilir.

Amniyon zarından dökülen hücreler ve alt fetal üriner sistem hücreleri çoğalan amniyotik sıvı hücrelerinin en büyük kısmını oluşturur. 15 haftadan önce ve 24-32. haftalarda amniyotik sıvıdan türetilen hücrelerin klonlama verimliliğinde ciddi bir düşüş izlenir [69]. Geleneksel G-bandi karyotiplemenin laboratuvarla ilgili başarısızlık oranları, ilerleyen gebelikte birlikte önemli ölçüde arttığından üçüncü trimesterde, karyotipleme, mikrodizi analizinden daha başarısız olabilir [70].

Genetik Testler

Amniyosentez sonrası kromozomal analiz (karyotipleme) sonuçlarının alınması 7-14 gün sürer. İnterfaz floresan in situ hibridizasyon (FISH) de sıklıkla anöploidilerin en yaygın nedenleri olan 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarının anöploidisini tespit eden probalar kullanılır ve 24 ila 48 saat içinde sınırlı karyotip bilgisi verir. Kılavuzlar, FISH tarafından tespit edilen anormalliklerin geleneksel sitogenetik analiz ile doğrulanmasını önerir [71].

Kromozomal mikrodizi kullanımı, mikrodelsyonları ve mikroduplikasyonları da tanımlayabilir. Ayrıca daha hızlı bir geri dönüş süresine sahiptir, çünkü çalışmalar doğrudan izole edilmiş hücrelerden ekstrakte edilen yüksek kaliteli DNA üzerinde gerçekleştirilebilir, bu nedenle kültür için zaman gerekli değildir (sonuçlar doğrudan test ile 3 ila 5 gün ve kültürlenmiş hücreler kullanıldığında 10 ila 14 gün sürer [68]. Kültür gereksinimi olmadığından ölü doğumların değerlendirilmesi daha kolaydır.

Amniyosentez Prosedürü

İşleme başlarken, fetal canlılığı, pozisyonu, biyometriyi, plasentanın yerini ve anatomiye değerlendirmek için bir obstetrik ultrason muayenesi yapılmalıdır. Amniyokorionik füzyon 16-17. gebelik haftasına kadar gecikebileceğinden eğer gebelik 15-16 haftalık ise, bu vakalarda membran füzyonuna daha fazla zaman tanımak için amniyosentez bir hafta ertelenebilir. Mümkünse plasentadan kaçınılarak iğne invazyonu için en uygun yer seçilmelidir. Bazı çalışmalar, transplasental amniyosentez ile fetal komplikasyon riskinin daha yüksek olduğunu öne süren çalışmalar olduğu gibi [71-76]; diğer çalışmalar bu durumu desteklememiştir [77-82]. Transplasental bir yaklaşım gerekliyse, plasentadan geçilerek işlem yapılabilir gibi, daha büyük bir intrauterin hacmin plasentasız bir alan oluşturmasına izin vermek için prosedür bir hafta ertelenebilir. Plasentadan geçmek gerekiyorsa iğne plasentanın en ince kısmından geçirilmelidir. Renk akış haritalaması, göbek kordonu giriş yerinin ve büyük koryonik damarların belirlenmesinde yardımcı olabilir. Maternal mesane iğnenin yolunu engelliyorsa, hasta iğneyi yerleştirmeden önce idrarını yapmalıdır.

Anne karnı antiseptik bir solüsyonla silinir ve örtülür. Lokal anestezi isteğe bağlıdır ve genellikle gereksizdir, çünkü çoğu hastada rahatsızlık hafif düzeydedir, anestezi uygulamasının kendisi ise ağrılıdır [83-86]. Hastaların anestezi talep etmesi halinde, yapılan lokal anestezinin amniosentez iğnesinin girişi esnasında ciltten geçişteki ağrıyı azaltılabileceği ama uterin geçiş esnasındaki ağrı hissine etkili olmayacağı bilgisi aileye verilir [84].

Amniyosentez için genellikle 20 veya 22 gauge spinal iğne kullanılır. Randomize bir çalışmada, daha büyük çaplı iğnenin kullanılmasının, iğnenin plasentadan geçmesi durumunda intrauterin kanama riskini azalttığı ve 22 gauge iğnenin kullanımına kıyasla daha hızlı sıvı alınmasına izin verdiği, ancak maternal rahatsızlığı artırdığı görüldü [87]. 20 gauge spinal iğne kullanımında, ince iğne kullanımına nazaran daha az kanama olma sebebi işlem süresinin daha kısa olması olarak değerlendirilmiştir. Bir spinal iğnenin standart uzunluğu 8,9 cm'dir ancak daha uzun iğneler de mevcuttur (15 cm). İğnenin uzunluk tercihi yapılırken, maternal cilt altı kalınlığı, hedef sıvı cebinin konumu ve uterus kasılmaları gibi durumların cilt ile hedef arasındaki mesafeyi artırabilme olasılığı hesaba katılmalıdır.

Amniyosentezde eş zamanlı ultrason rehberliğinin kullanılmasının fetal kayıp oranını azalttığı gösterilmese de doğrudan fetal yaralanmanın önlenmesi, ponksiyon sayısının ve kanlı sıvı insidansının azaltılması için prosedür boyunca iğnenin sürekli ultrasonografik olarak görülerek işlem yapılması gerektiği düşünülmektedir [88].

Prob, ya bir asistan tarafından antiseptikle hazırlanan cilt bölgesinden uzakta tutulur ya da daha yaygın olarak steril bir kılıfa yerleştirilir. Prob ile temas edecek yüzeye steril olmayan jel, anne cildi ile temas edecek dış yüzeye ise steril jel sürülür.

Serbest el tekniği, iğne invazyon yolunda ayarlamalara izin verdiği için çoğu operatör tarafından tercih edilir. Çoğu gerçek zamanlı ultrason makinesinde, örnekleme alanını hedeflemek için kullanılan iğne yolunu gösteren bir ekran şablonu vardır.

İğnenin ilerleyeceği yol üzerinde maternal barsak ve mesane tespit edilirse iğne çıkarılmalıdır çünkü bağırsaktan geçiş nadir görülse de bağırsak florasını amniyotik sıvıya sokarak enfeksiyona ve gebelik kaybına neden olabilir.

Çoğu operatör, probu kendileri tutarken iğneyi sokmayı tercih eder; iğne ucu hedef amniotik cebe ulaştığında, bir asistan probu tutar ve iğne ucunun gösterilmesini sağlar; operatör de amniyotik sıvı numunelerini alır. Amniosentez yapan kişi, iğnenin ekrandaki görünümüne aşina olmalıdır. İğne yerleştirme için «paralel» bir yaklaşım benimsenirse, iğne deriye konveks probun ucundan girer ve deriden hedef amniotik cebe kadar boylu boyunca görüntülenebilir. «Dikey» bir yaklaşım benimsenirse, iğne lineer veya konveks bir probun ortasına bitişik olarak yerleştirilir ve yalnızca iğne ucunun bulunduğu alan görüntülenir. Eğer iğnenin ucu ekranda görülüyorsa iğne ilerletilmemelidir. Operatörün bileğini kullanarak, uterus kasından amniyotik boşluğa geçerken iğneyi ani bir şekilde itmesi, zarın gerilmesini önlemeye yardımcı olabilir.

Stile çıkarıldığında amniyotik sıvı gelişi görülmelidir. Stilenin çıkarılması sırasında hiçbir amniyotik sıvı görünmüyorsa, fetal membranlar iğne tarafından delinmemiş ve çadırlaşmış ve böylece iğnenin amniyotik boşluğa girmesini önlemiş olabilir. Bu durum, 15+0 gebelik haftasından önceki amniosentez işlemlerinde, amniyon, koryon ve desidua parietalis'in eksik fizyolojik "füzyonu" nedeniyle daha sık görülür. Bu durumda yeniden eğim vermek ve zarları delmek için iğne döndürülebilir, bu manevra başarısız olursa ve iğnenin yeniden konumlandırılması gerekiyorsa, daha fazla itme yapılmadan önce stile yeniden yerleştirilmelidir. İğneyi yeniden yönlendirmeye yönelik girişimler ultrasonografik olarak görülerek yapılmalıdır. Alternatif olarak, iğne anne karnından geri çekilebilir ve amniyokoriyonik ayrılmanın olmadığı uterusun bir bölgesine yönlendirilebilir ya da İkinci defa iğne yerleştirme de denenebilir.

Eğer muslukta amniotik sıvı görülmediyse, işlem nedenli fetal kayıplar ponksiyon sayısı ile ilgili olmasa da birçok klinisyen başka bir girişimi 1 hafta sonraya erteleyecektir [79].

Amniyotik sıvının ilk damlası, geçiş sırasında iğneye yapışan maternal hücreleri içerebilir. Genellikle bu ilk sıvı örneğinin atılması tercih edilir, çünkü maternal hücrelerle kontaminasyon sitogenetik çalışmalarda düşük seviyeli mozaizmden sorumlu olabilir. Bazen, bu ilk örnek amniyotik sıvı alfa fetoprotein tayini için kullanılabilir. Sonrasında sıklıkla 20-30 mL amniyotik sıvı, steril enjektörlere aspire edilir [89]. Gebelik boyunca amniyotik sıvı hacmi arttığından, çekilen amniyotik sıvı miktarı gebelik yaşına göre belirlenmelidir (genel kural, hafta cinsinden gebelik yaşına eşdeğer mililitre cinsinden sıvı aspirasyonudur: 15 haftada 15 mL gibi).

İşlemden sonra fetal kalp hızı değerlendirilmelidir. İşlemden hemen sonra uterus krampları, geçici lekelenme ve vajinal birkaç damla amniyotik sıvı kaybı meydana gelebilir. Hasta, devam eden vajinal amniyotik sıvı kaybı veya kanama olması, birkaç saat süren şiddetli rahim kramplarının olması veya ateş varlığı durumunda hastaneye başvurması konusunda bilgilendirilmelidir. Fiziksel veya cinsel aktivitenin sınırlandırılması gereksizdir.

Alloimmunize olmayan RhD negatif hastalara, RhD sensitizasyonunu önlemek için amniyosentez sonrası Rh(D) immün globulin (örn., RhoGAM) yapılmalıdır. ACOG, 300 mcg'lik bir doz önermektedir.

Renkli Numuneler

- Kan – Ultrason eşliğinde yapılan amniyosentezlerin %1'inden daha azında kanlı amniyotik sıvı aspire edilir [8,26]. Kan çoğunlukla anneye aittir ve amniyosit büyümesini olumsuz etkilemez. Kanlı numune alınan amniyosentez sonrasında fetal kayıp riskinin arttığını bildiren iki çalışma mevcuttur (olasılık oranları 2.2 ve 6.5) [72,79]. Buna karşılık, ultrason rehberliğinde gerçekleştirilen ve %3,7 sinde “hemorajik” amniyotik sıvı bildirilen 5948 amniyosentezin yapılan takibinde kanlı sıvı ile 24 haftaya kadar fetal kayıp arasında hiçbir ilişki bulunmamıştır [76].
- Yeşil veya kahverengi sıvı – İkinci trimester amniyotik sıvısında yeşil veya kahverengi pigment varlığı, brüt kandan daha yaygındır (yaklaşık %2) [71,90] ve amniyosentez öncesi intraamniyotik kanamayı gösterir [91,92]. Yeşil veya kahverengi sıvı, berrak sıvıdan daha yüksek bir düşük veya fetal ölüm oranı ile ilişkilidir [92-95]. Bir randomize çalışmada, rengi bozulmuş sıvının aspire edildiği bir amniyosentezden sonra öploid bir fetüsün düşmesi riskinin, 10 kat arttığını bildirilmiştir [71]. Hem anormal renkli sıvı hem de açıklanamayan yüksek maternal serum alfa-fetoprotein varlığında, abortus 1/3 gibi yüksek bir oranda izlenmiştir. Rengi bozulmuş amniyotik sıvı, berrak sıvıya göre kromozomal anormallikleri, kültür başarısızlığı ve amniyotik sıvının (özellik-

le Mycoplasma türleri) mikrobiyal kontaminasyonu ile daha fazla ilişkilidir [96-99]. Amniyonda mycoplasma saptanması, kronik endometriyal enfeksiyonu ve muhtemelen artmış erken membran rüptürü [100] ve artmış erken doğum [101] riskini gösterebilir. Bu vakalarda antibiyotiklerin yararlı olduğu bildirilse de rengi değişmiş amniyotik sıvı varlığında rutin kültür önerilmesi ve pozitif sonuçların tedavisi için yeterli veri yoktur [101-103].

Komplikasyonlar ve Kötü Sonuçlar

Amniyosentezin başlıca komplikasyonları membran rüptürü, doğrudan fetal yaralanma, dolaylı fetal yaralanma, enfeksiyon ve fetal kayıptır. Amniyotik gibi maternal komplikasyonlar 1/1000 prosedürden daha azında meydana gelir.

Amniyotik Sıvı Sızıntısı

Sıvı kaybı hemen hemen her zaman küçük bir hacimdedir ve genellikle bir hafta içinde kendiliğinden durur; bir ila yedi hafta arasında kaybedilen sıvı yeniden birikir [104,105]. Geçici sıvı kaybının gebelik prognozu genellikle iyidir [71].

Gebelik süresi boyunca kronik sızıntı nadiren meydana gelir ve prognozu genelde iyidir [106,107]. Amniyosentez sonrası membran rüptürü (PPROMa) olanlar ile spontan membran rüptürü (sPPROM) olan hastaların karşılaştırıldığı bir çalışmada, membran rüptürünün gerçekleştiği hafta benzer olsa da PPROMa yaşayan hastaların, sPPROM'lu olanlara göre daha ileri gebelik yaşlarında (34.2'ye karşı 21.6 hafta) doğum yaptığı, perinatal sağkalımın da bu grupta daha yüksek olduğu izlenmiştir (yüzde 91'e karşı yüzde 9) [105]. Bu nedenle bu hastalarda amniyotik sıvı hacminin, fetal büyümenin ve maternal enfeksiyon belirtilerinin seri olarak izlenmesi ile konservatif tedavi uygun bir seçenektir. Eğer anhidramnios varsa, hastalar erken doğum, iskelet deformasyonu ve pulmoner hipoplazi risklerinin artması konusunda bilgilendirilmelidir.

Koryoamniyotik Ayrılma

Amniyosentezden sonra koryoamniyotik ayrılma olabirse de tüm yüzey boyunca yayılmadığı sürece gebelik sonucunu etkilemediği düşünülmektedir [108].

Doğrudan Fetal Yaralanma

Ultrason eşliğinde yapılan amniyosentez işleminde fetusun iğne ile yaralanması nadirdir [71,109-111]. Orta trimester amniyosentezine atfedilen fetal yaralanmalar (kan kaybı, deri gamzeleri, oküler yaralanma ve kafa içi ve bağırsak anormallikleri) özellikle izole vaka raporlarında izlenmiştir [88].

Dolaylı Fetal Yaralanma

Birkaç prospektif çalışma, amniyosentez yapılan gebelerden doğan bebeklerde, yapılmayan kontrollere kıyasla, ortopedik malformasyon ve solunum problemleri oranının arttığını bildirmiştir. 10.000'den fazla gebelikten toplanan veriler, talipes ekinovarus veya konjenital kalça çıkığı sıklığının, vakalarda ve kontrollerde sırasıyla yüzde 0,76 ve yüzde 0,56 olduğunu göstermektedir [71,109,112]. Solunum sıkıntısı riski için, vakalarda ve kontrollerde birleştirilmiş gerçek sıklık sırasıyla yüzde 1,2 ve yüzde 0,45'tir. Postüral malformasyonların amniyotik sıvı hacminin az olduğu erken amniyosentezden sonra, kalıcı amniyotik sıvı sızıntısını takiben daha yaygın izlenmesi komplikasyonun nedeninin oligohidramniossa bağlı fetal kompresyon olması hipotezini destekler [113]. Amniyosentez yaptırmış hastaların takibinde (doğumdan 7 ila 18 yıl sonra) önemli ölçüde artan majör sakatlık oranı izlenmemiştir [114]. Bütün bu çalışmalar geçici dolaylı fetal yaralanma riskinin arttığını göstermektedir; artan risk istatistiksel olarak anlamlı olsa bile, mutlak aşırı risk küçüktür.

Vertikal Bulaşma

Amniyosentez ile hepatit virüsü, sitomegalovirüs, toksoplazmoz ve HIV gibi enfeksiyonların, anneden bebeğe geçişini tanımlayan vaka raporları vardır [115,116]. Amniyosentez yapılmış kronik enfekte hastaların çocuklarında daha yüksek neonatal enfeksiyon oranları olduğu düşünülmektedir [117-119]. HIV enfeksiyonu olan hastalarda anneden çocuğa bulaşma endişeleri nedeniyle kılavuzlar, yüksek derecede aktif antiretroviral tedavi (HAART) başlatıldıktan ve mümkünse viral yük saptanamaz hale geldikten sonra invaziv prenatal tanı prosedürlerinin yapılmasını önermektedir [120].

Büyük kontrollü çalışmalarda, amniyosentez, yüksek oranda viremik (HBV DNA seviyeleri $\geq 7 \log(10)$ kopya/mL) olanlarda ve hepatit B e-antijeni (HBeAg) pozitif olanlarda hepatit B virüsünün (HBV) dikey bulaşma oranlarında artış ile ilişkilendirilmiştir. [121,122]. Yüksek düzeyde viremik gebelerde antiviral tedavi verilmesi çocuğa hepatit B virüsünün bulaşma riskini azaltmaktadır [122]. İki küçük vaka serisinde amniyosentez ile hepatit C virüsünün (HCV) dikey geçişi arasında ilişki saptanmamıştır [123].

Barsak Florasıyla İnokülasyon

Çok nadir görülen bir komplikasyon olsa da barsağı geçme durumunda, bağırsak florası amniyotik sıvıya karışıp, intrauterin enfeksiyona, gebelik kaybına ve nadiren septik şoka neden olabilir.

Hücre Kültürü Başarısızlığı

Örneklerin %0,1'inde amniositler kültürde üretilemez [124].

Mozaisizm

Gerçek mozaisizm aynı bireyden alınan örnekte en az iki birincil kültürde normal hücre grubuna eklenmiş bir veya daha fazla anormal hücre grubu olarak tanımlanır ve amniyosentez yapılan gebeliklerin %0,1- 0,2'sinde görülür [125,126]. Yalancı mozaisizm (bir kültür şişesiyle sınırlı anormal hücre dizisi) daha yaygındır ve %8 kadarında görülür [126].

Amniyosentezde mozaisizm tespit edildiğinde, fetal mozaisizm varlığını doğrulamak için fetal kanda aynı anormal hücre grubunu saptamak adına fetal kan örnekleme yapılabilir. Bununla birlikte, fetal kan örnekleme sonucu normal olsa bile, anormal hücre dizisi, deri gibi diğer fetal dokularda pozitif olabilir. Her iki durumda da fenotipi tahmin etmek kolay değildir ve genetik hekimi ortak değerlendirme yapıp seri fetal ultrason muayeneleri önerilir.

Fetal Kayıp

Amniyosentezin prosedürle ilgili fetal kayıp riski çok küçüktür. Uzman bir operatör tarafından, ultrason eşliğinde yapılan işlemlerde fetal kayıp riski % 0,2-0,3 tür. ACOG bu riskin % 0,1-0,3 olduğunu belirtmektedir [68]. Fetal kayıpların çoğu amniyosentezden sonraki dört hafta içinde meydana gelir [8,72,73].

Çeşitli faktörlerin amniyosenteze bağlı fetal kayıp riskine etkileri:

- Operatör deneyimi fetal kayıp oranında önemli değildir [71,129,130] ancak numune kalitesini etkileyebilir [131,132].
- Çoğu seride iğne giriş sayısı artan fetal kayıp riski ile ilişkili saptanmamıştır [76,79,82,94]. Bununla birlikte, yeni bir çalışma, fetal kayıp riskinin tek prosedür ve tek girişim için %0,3 den, >1 prosedür ve >1 girişim de %5,2'ye arttığını göstermiştir [130].
- Amniyosentez için bazı endikasyonların kendileri fetal kayıplar için risk faktörleridir:

-Amniyosentez için endikasyon yüksek maternal serum alfa-fetoprotein (MSAFP) değeri ise daha yüksek fetal kayıp oranları gözlenmiştir. Bir çalışmada, 2 MoM üzerindeki MSAFP nedeniyle yapılan amniyosentezden sonra fetal kayıp göreceli riski 8.3 saptanmıştır [71].

-Amniyosentez için endikasyon fetal anomalilerin varlığı ise, fetal kayıp riski artmıştır [130].

Mevcut gebelikte saptanan vajinal kanama öyküsü, amniyosentezden 28. gebelik haftasına kadar saptanan artmış spontan fetal kayıp oranı ile ilişkilendirilmiştir (%5,9'a karşı %3,8) [90].

-İlk trimesterde üç veya daha fazla kürtaj veya ikinci trimesterde bir veya daha fazla kürtaj öyküsü olması amniyosentezden sonra daha yüksek gebelik kaybı oranı ile ilişkilendirilmiştir (sırası ile %6,9'a karşı % 3,5) [90].

Obstetrik Komplikasyonlar

Birinci veya ikinci trimester amniyosentezine maruz kalmak, gebelikle ilişkili hipertansiyon [133], düşük veya çok düşük doğum ağırlığı [134], dekolman [135], erken doğum, PPRM, ölü doğum, neonatal mortalite veya perinatal mortalite gibi sonraki obstetrik komplikasyon riskinin artması ile ilişkili bulunmamıştır.

Çoğul Gebeliklerde Amniyosentez

Ultrasonografide anormallik ve fetal gelişimlerde diskordans saptanmayan monokoryonik ikizlerde genellikle sadece bir kese örnekleme yeterli olacaktır, ancak monozigotik ikizlerde de uyumsuz karyotip ve mikrodizi bildirilmiştir [136,137]

-Çoklu İğne Tekniği: Çoğu operatör, çoğul gebeliklerin genetik çalışmaları için, her bir amniyotik kavite için ayrı ve sıralı olarak yeni bir iğne yerleştirerek, her kese üzerinde ayrı prosedürler uygular. Çok iğneli tekniğin, tek iğneli tekniğe kıyasla olumsuz sonuç riskini artırmaz [138]. Çoklu iğne tekniği ile bir keseden amniyotik sıvı aspire edilir ve iğne çekilmeden önce mavi indigo karmin boya (2 ila 3 mL) enjekte edilir, sonra yeni bir iğne sokularak ve boyasız olması gereken amniyotik sıvı aspire edilerek farklı bir kesenin örneklenmiş olduğu doğrulanır. İndigo karmin yoksa yenidoğanda methemoglobinemiye neden olabileceğinden, ince bağırsak atrezisi riskini artırabileceğinden ve cildi lekeleyebileceğinden dolaşıcı metilen mavisi kullanılmamalıdır. Deneyimli operatörler, özellikle ayırıcı zarlar net bir şekilde görüntülendiğinde, boya enjeksiyonu olmadan çok iğneli tekniği kullansa da %3,5 oranında teşhis hatası izlenmiştir [136].

-Tek İğne Tekniği: Rahim içine tek bir iğne sokarak her iki ikiz kesenin aspirasyonu alternatif bir tekniktir [139-142]. İğne, en derindeki fetusun kesesine bitişik bir sıvı cebi seçilerek önce öndeki keseye yerleştirilir. İlk keseden sıvı aspire edildikten sonra, iğne ultrason rehberliğinde ayırıcı zarıdan ikinci keseye ilerletilir. Bu prosedürde iki sıvının karıştırılması, genetik testlerin yanlış yorumlanması ve bölünen zarın kesilmesi potansiyelini içerir.

Amniyosentez uygulanan ikiz gebeliklerde toplam gebelik kaybı oranı, amniyosentez yapılmayanlara göre daha yüksek saptanmıştır [143,144]. ACOG İkiz gebeliklerde amniyosenteze bağlı kayıp oranını yüzde 1 olarak tahmin ediyor [68].

Fetal Kan Örneklemesi (FKÖ)

Fetal kana erişim sağlamak için üç teknik kullanılır: kordosentez (perkütan umbilikal kan örneklemesi olarak da bilinir), intrahepatik kan örneklemesi ve kardiyosentez. Bu teknikler, ilacın (örn., digoksin) veya kan ürünlerinin (örn., trombositler, kırmızı kan hücreleri) fetüse intravenöz uygulanması için de kullanılabilir.

Endikasyonlar

- 1-Fetal genetik bozuklukların tanısal değerlendirmesine yardımcı olmak için fetal kan örneklenir. FKÖ ölümcül komplikasyonları olan riskli bir yöntem olduğundan, amniyosentez ve koryonik villus örneklemesi kullanımının yeterli veya zamanında tanısal bilgi sağlamadığı durumlarla sınırlandırılmalıdır [145].
- 2-Yüksek orta serebral arter pik sistolik hızı (gebelik yaşı için >1.5 MoM) nedeniyle şüphelenilen şiddetli fetal aneminin doğrulanması için fetal kan örneklenir [145]. Güneydoğu Asya ülkelerinde, risk altındaki fetüslerde şiddetli bir talaseminin genetik tanısı için FKÖ sıklıkla uygulanmaktadır [146].

Prosedür

- Anne karnı antibakteriyel solüsyonla hazırlanır ve örtülür.
- Fetus viabilite sınırının altında ise, FKÖ sonografik muayeneler için kullanılan bir odada yapılabilir. Daha ileri hafta fetüslerde işlem sırasında veya sonrasında güven vermeyen fetal kalp hızı paternleri gelişirse acil sezaryen doğum gerekli olabileceğinden, ameliyathaneye yakın bir yer tercih edilmelidir.
- Fetal akciğer olgunluğunu artırmak için 24+0 ve 33+6 gebelik haftaları arasındaki fetüslerde tanı ve tedavi prosedürlerinden en az 24 saat önce glukokortikoidler uygulanabilir.
- Alınacak örneklerle karşılaştırmak için prosedürden önce bir anne kanı örneği alınır.
- Fetal canlılığı doğrulamak ve fetal pozisyonu ve plasentanın yerini belirlemek için bir obstetrik ultrason muayenesi de yapılır.
- Fetal kan örneklemesinin düşük enfeksiyon riski olan “temiz” bir prosedür olduğu göz önüne alındığında, çoğu merkez antibiyotik profilaksisi kullanmamayı seçmiştir [145].
- Teşhis prosedürleri için lokal anestezi isteğe bağlıdır. Terapötik işlemlerde ise iğne uzun süreli kalacağından hasta rahatsızlığını hafifletmek için yararlıdır. Maternal sedasyon genellikle gerekli değildir [145].

-Fetal paralitik ilaçları kullanarak hareketi azaltmak FKÖ için rutin olarak gerekli değildir, ancak prosedür uzun sürecek ise (örn., fetal transfüzyon) veya zor bölgelere erişim gerekliyse, fetal hareket iğneyi yerinden çıkarabileceğinden tercih edilebilir. Paralizi için atracurium (0.4 mg/kg) intramüsküler olarak verilir ve minimal fetal kardiyovasküler etkilerle bir saate kadar hareketsizlik sağlar [147].

-FKÖ için genellikle 20 ila 22 gauge spinal iğne kullanılır. Daha küçük çaplı iğneler, fetal kan elde etmek için gereken süreyi uzatır ve büküldükleri için manipüle edilmeleri daha zordur. 22 gauge iğne, 24. gebelik haftasından önce göbek damarlarının küçük çapı nedeniyle ve yerleştirme yerinde kanama riskini azaltabileceğinden tercih edilir. Maternal ciltten hedef kord segmentine olan mesafe ve uterus kasılmaları gibi araya giren olayların bu mesafeyi artırma olasılığını göz önünde bulundurularak iğne tercihi yapılmalıdır. İşlem öncesi iğnenin sodyum sitrat veya heparin ile yıkanması pıhtılaşmanın önlenmesinde yardımcı olur.

-Plasentanın ve fetüsün pozisyonu ve operatör deneyimine göre fetal kan örneklem bölgesi seçilir. Fetal kan örneklem yöntemlerinin her birinde başarı oranları yüksek olsa da yüksek fetal kayıp oranları nedeniyle kardiyosentez tercih edilmez.

Teknikler

1-Umblikal Kord Kan Örneklemesi

Umblikal korddan numune almanın ilk adımı, tercihen kordonun plasentaya girdiği yerde kordonun sabit bir bölümünü belirlemektir. Umblikal kord uterus yan duvarı ile sabitlenebiliyorsa, serbest loop örneklemesi yapılabilir; bu durumda kanın fetal orijinini doğrulamak gerekmez, ancak kordu sabitlemek zor olduğundan ve iğne giriş bölgesinden kanamanın devam etmesine neden olabileceğinden, daha az tercih edilir [148]. Polihidramnios vakalarında plasenta posteriora ise kordon insersiyon bölgesine ulaşabilmek için terapötik bir amniyosentez gerekebilir. Oligohidramnios varlığı ise kordon plasenta girişinin görüntülenmesini zorlaştırabilir. Renkli Doppler ultrasonografi plasental kordon invazyon yerini doğrulamak için kullanılabilir.

İğne ile umblikal korda girildiğinde stile çıkarılır ve fetal kan iğneye takılı bir enjektöre çekilir. Enjektör, heparin veya sitrat gibi az miktarda antikoagülan ile yıkanabilir. Kordona az miktarda serum fizyolojik enjeksiyonu ve damar boyunca türbülanslı akışın gözlemlenmesi iğnenin doğru yerde olduğunu gösterir. Umblikal kan akışı Doppler renk akışı ile belgelendikten sonra, eğer numune serbest loopdan alınmadıysa, fetal hücreleri maternal hücrelerden ayırt etmek için eritrosit boyutunun belirlenmesi (CMV) için bir ilk numune gönderilmelidir. Kan örnek-

leri alındıktan sonra iğne geri çekilir ve işlem bölgesi kanama açısından izlenir. FKÖ sonrası intraumbilikal ven transfüzyonu yapılırsa, transfüzyon bölgesinin yakınındaki bir umbilikal arterde renkli Doppler veya puls Doppler ile fetal kalp atımı aralıklı olarak izlenmelidir. Fetal kalp atımı varsa, işlemden sonra bir ila iki saat boyunca fetal kalp hızı monitörize edilir. Umbilikal venlerden örnek almak artere göre daha güvenlidir; arterin delinmesi halinde bradikardi, kanama ve acil doğum insidansı artar [149,150]. Boyutlarındaki farklılıklar ve spektral Doppler ile dalga biçimi analizi ile arter-ven ayrımı yapılabilir. Numunenin arteriyel veya venöz mü olduğunun doğru tespiti, fetüsün asit-baz ve oksijenasyon durumunun doğru yorumlanmasını sağlar.

2-İntrahepatik Ven Fetal Kan Örneklemesi

Fetal karın içine, göbek venin intrahepatik kısmına veya sol portal vene 20 veya 22 gauge bir iğne sokulur. Bu prosedür genellikle başarısız kordosentez vakalarında ikinci basamak bir yaklaşım olarak kullanılsa da;

-Numunenin fetal orijini ve numunenin venöz orijininin kesinliğini doğrulamak için acil laboratuvar desteği gerekmemesi,

-Plasentadan kaçınıldığı için daha düşük fetomaternal kanama ve alloimmünizasyon riski olması,

-Kordosenteze kıyasla işlem bölgesinden çok daha az kanama olması (yüzde 0,8'e karşı yüzde 30,8) [151],

-Posterior plasenta varlığında veya ikiz gebeliklerde örneklem alanına daha kolay erişim sağlaması, nedeniyle bazı merkezler birinci basamak prosedür olarak kullanmaya başlamıştır [151-153].

Kanama riskinin az olması nedeniyle intrahepatik ven örneklemesi, fetal trombositopeni riski taşıyan vakalarda kordosenteze tercih edilebilir. Prosedüre bağlı fetal kayıp riski yüzde 0- 6,2 arasında değişmektedir [151-153].

İşlem sonrası karaciğer enzimlerinde anlamlı değişiklik görülmemiştir, bu da minimal fetal karaciğer hasarını düşündürür [152].

3-Kardiyosentez

Ciddi bir fetal bozukluk olasılığının yüksek olduğu ve diğer bölgelerden FKÖ'nin teknik olarak imkansız olduğu veya tekrar tekrar başarısız olduğu durumlar dışında, yüksek fetal kayıp oranı (yaklaşık yüzde 5) nedeniyle kardiyosentez tercih edilmez [153,154]. Mümkünse fetal hareketlerin işlemi zorlaştırmasını önlemek için iğne, ön göğüs duvarından hızlı bir şekilde, sağ ventriküle yerleştirilmelidir [155].

FKÖ prosedürleri kullanılarak elde edilen fetal kan örnekleri EDTA (etilendi-aminetraasetik asit) veya heparin içeren tüplere yerleştirilir ve pıhtılaşmayı önlemek için iyice karıştırılır. Alınan kan hacmi, fetoplasental kan hacminin yüzde 6-7'sini geçmemelidir, bu da tahmini fetal ağırlığın her kilosuna maksimum 100 ml olacak şekilde hesaplanır [156].

FKÖ ile fetal hemoglobin sonucu arasındaki süreyi kısaltmak için hazırda bulunan bir hemoglobinometrenin kullanılması önerilir [157].

Fetal Kanın Doğrulanması

Fetal eritrositler maternal eritrositlerden daha büyük olduğundan, fetal kan örneğinin saflığı genellikle kırmızı kan hücrelerinin ortalama korpüsküler hacmi kullanılarak değerlendirilir.

Maternal kandan fetal kan ayırt etmek için kullanılan diğer yöntemler şunları içerir:

-Kleihauer-Betke testi – Fetal ve yetişkin hemoglobinin asit maruziyetine karşı farklı duyarlılıklarına dayanan bu test ile, %0,5 kadar az oranda bir maternal kan kontaminasyonu saptanabilir [158]. Fetal eritrositlerdeki hemoglobin A artışından dolayı, testin doğruluğu üçüncü trimesterin sonlarında azalır.

-İnsan koryonik gonadotropin (hCG) tayini maternal kan kontaminasyonunun tespiti için en iyi belirteçtir [158]. Anne kanı yüksek konsantrasyonlarda hCG içerirken, fetus kanında pratik olarak hCG yoktur. hCG tayini, anne kanı ile %0,2 lik veya amniyotik sıvı ile %1 lik kontaminasyonu saptayabilir [158].

-Hemoglobin alkali denatürasyon testi (Apt testi) – 5 mL su ve 0.3 mL % 10 KOH içeren bir cam tüpe 0.1 mL örneklenmiş kan eklenir ve tüp iki dakika boyunca hafifçe çalkalanır. Anne kanı ile kontamine olan karışımın rengi kırmızıdan yeşil-kahverengiye değişir [159,160].

-Beyaz kan hücresi sayımı – Fetüste baskın beyaz kan hücreleri lenfositler iken annede nötrofiller baskındır.

Örnekteki RBC'ler, beyaz kan hücreleri ve trombositlerin sayısında benzer şekilde orantılı bir azalma olması, fetal kan örneğinin yaymasında eğreltiotu görüntüsü veya çok sayıda pul pul dökülmüş epitel hücrelerinin varlığı [161,162], fetal kan örneğinin amniyon ile seyereldiğini gösterir.

KOMPLİKASYONLAR

Kordosentez ile ilişkili majör fetal komplikasyonlar; hayatı tehdit edebilen kanama, bradikardi ve enfeksiyondur.

1-Fetal Kanama

Kordosentezin en sık görülen komplikasyonu, ponksiyon yerinden kanamadır (%20-30) [145]. Umbilikal arter delinirse, ven ponksiyonundan (ortalama 35 saniye) önemli ölçüde daha uzun süre kanama izlenir [149,150]. İşlem sonrası kanama, 21. gebelik haftasından önce olursa prognoz daha kötüdür [163]. Trombosit sayısı veya işlevinde kusurlu fetüsler, ponksiyon bölgesinden şiddetli kanama açısından önemli risk altındadır [164-168]. Bu nedenle, bir fetal trombosit bozukluğunu teşhis etmek için FKÖ yapıldığında fetal trombosit sayımı beklenirken fetüse trombosit transfüzyonu yapmak doğru olur. FKÖ bölgesinden kanama riskinin düşük olması nedeniyle, şüpheli fetal trombositopeni varsa intrahepatik ven örnekleme önerilen en uygun tekniktir [151]. Konjenital bir hemostatik bozukluğun (von Willebrand hastalığı ve hemofili gibi) prenatal tanısı için FKÖ yapılıyorsa, fetal transfüzyon için taze donmuş plazma mevcut olmalıdır [169,170].

2-Kordon Hematomu

Kordon hematomu genellikle asemptomatiktir. Güven verici fetal izleme testleri (örn. nonstres testi, biyofiziksel profil) varlığında hematom büyüyorsa hasta takip edilir.

3-Fetomaternal Kanama

Vakaların %40'ında anlamlı fetomaternal kanama meydana gelir [171-173]. FKÖ'den hemen önce ve sonra alınan maternal kanda serum alfa-fetoprotein konsantrasyonunda %50'den fazla artış saptanması ya da anne kanının Kleihauer-Betke boyamasında 1 mL'den fazla hesaplanmış fetal kan varlığı anlamlıdır. İşlem üç dakikadan uzun sürüyorsa birden fazla iğne girişi gerekiyorsa ve anterior plasenta varlığında fetomaternal kanama sıklığı artar [171-173]. Küçük bir fetomaternal kanamanın ana sonucu, maternal alloantikör titrelerinde bir artıştır [171,172]. Büyük bir fetomaternal kanama nadirdir ve ciddi fetal anemi ve ölümlle sonuçlanabilir.

4-Fetal Bradikardi

FKÖ vakalarında %5-10 geçici fetal bradikardi rapor edilmiştir [145]. Çoğu vaka müdahale olmadan beş dakika içinde çözülür. Umbilikal arterde diyastolik akım kaybı olan gelişme gerilikli fetüsler bradikardi için en yüksek risk altındadır [150].

5-Enfeksiyon

FKÖ'den kaynaklanan enfeksiyon riski koryoamniyonit ile sınırlıdır ve çok nadir de olsa (%1 den az) işlem ile ilişkili gebelik kayıplarının %40 kadarından sorumludur [150,174-176]. Bu nedenle antibiyotik profilaksisi önerilebilir.

Başarısızlık Oranı — Kordosentez ve intrahepatik ven örnekleme benzer başarısızlık oranlarına sahiptir (sırasıyla yüzde 9 ve yüzde 5) [151].

6-Fetal Kayıp

İşlem sonrası gebelik kaybı riski yüzde 1,4- 1,9 dur [177-179]. FKÖ prosedürüne bağlı fetal kayıp için en önemli risk faktörleri:

- Anormal fetüs – Anormal fetüste (yapısal anomalileri olan veya hidropsu veya büyüme kısıtlı fetüsler gibi) fetal kayıp riski önemli ölçüde daha yüksektir [176,180,181].
- Yetersiz operatör deneyimi
- Fetal kalpten numune alma
- Gebelik yaşı <24 hafta fetüslerde fetal kayıp riski daha yüksektir [182].

Fetal Anomaliler — Bir anomalinin mutlak riski küçük görünmektedir (<1/1000 prosedür).

7-Gebelik haftasına göre küçük fetus, erken doğum ve diğer komplikasyonlar için

5000'den fazla FKÖ prosedürünü içeren geniş bir kohort çalışması FKÖ uygulanan ve normal sonuçları olan hastalarda gebelik haftasına göre küçük doğum ve erken doğum oranlarında önemli artışlar olduğunu bildirdi [179].

8-Dikey Enfeksiyon Bulaşması

Kronik hepatitli veya HIV pozitif olan hastalarda FKÖ gibi invaziv prosedürlerde, prosedüre bağlı dikey fetal bulaşma riski vardır.Bu hastalarda amniyosentez ile ilgili literatürün dayanarak, bu riskin çok düşük ve viral yük ile ilişkilidir [145]. İşlem sırasında plasentanın penetrasyonundan kaçınılmalıdır. Viral yükü indirmek için antiviral ilaçlar verilerek bulaşma riski azaltılabilir. Hastanın viral yüküne, işlemin endikasyon ve aciliyetine göre her hasta için bir risk-fayda analizi yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kuliev A, Jackson L, Froster U, et al. Chorionic villus sampling safety. Report of World Health Organization/EURO meeting in association with the Seventh International Conference on Early Prenatal Diagnosis of Genetic Diseases, Tel-Aviv, Israel, May 21, 1994. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:807.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2007; 110:1459.
3. Wapner RJ. Chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24:83.
4. Moise KJ Jr, Carpenter RJ Jr. Increased severity of fetal hemolytic disease with known rhesus alloimmunization after first-trimester transcervical chorionic villus biopsy. *Fetal Diagn Ther* 1990; 5:76.
5. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Amniocentesis and Chorionic villus Sampling. Green top guideline No. 8, June 2010. <http://www.rcog.org.uk/files/rcog-corp/GT8Amniocentesis0111.pdf> (Accessed on March 14, 2014).
6. Jackson LG, Zachary JM, Fowler SE, 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.
7. Silver RK, MacGregor SN, Sholl JS, et al. Initiating a chorionic villus sampling program. Relying on placental location as the primary determinant of the sampling route. *J Reprod Med* 1990; 35:964.
8. Brambati B, Terzian E, Tognoni G. Randomized clinical trial of transabdominal versus transcervical chorionic villus sampling methods. *Prenat Diagn* 1991; 11:285.
9. Silver RK, MacGregor SN, Muhlbach LH, et al. A comparison of pregnancy loss between transcervical and transabdominal chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1994; 83:657.
10. Chueh JT, Goldberg JD, Wohlferd 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.
11. Smidt-Jensen S, Philip J, Zachary JM, et al. Implications of maternal serum alpha-fetoprotein elevation caused by transabdominal and transcervical CVS. *Prenat Diagn* 1994; 14:35.
12. Young C, von Dadelszen P, Alfirevic Z. Instruments for chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; :CD000114.
13. von Dadelszen P, Sermer M, Hillier J, et al. A randomised controlled trial of biopsy forceps and cannula aspiration for transcervical chorionic villus sampling. *BJOG* 2005; 112:559.
14. Brown L, Abigania M, Warburton D, Brown S. Validation of QF-PCR for prenatal aneuploidy screening in the United States. *Prenat Diagn* 2006; 26:1068.
15. Pergament E, Schulman JD, Copeland K, et al. The risk and efficacy of chorionic villus sampling in multiple gestations. *Prenat Diagn* 1992; 12:377.
16. Wapner RJ, Johnson A, Davis G, et al. Prenatal diagnosis in twin gestations: a comparison between second-trimester amniocentesis and first-trimester chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1993; 82:49.
17. 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.
18. De Catte L, Liebaers I, Foulon W. Outcome of twin gestations after first trimester chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2000; 96:714.
19. Eddleman KA, Stone JL, Lynch L, Berkowitz RL. Chorionic villus sampling before multifetal pregnancy reduction. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:1078.
20. Alfirevic Z, Navaratnam K, Mujezinovic F. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 9:CD003252.
21. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2007; 110:687.

22. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, et al. Randomised comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992; 340:1237.
23. Medical Research Council European trial of chorion villus sampling. MRC working party on the evaluation of chorion villus sampling. *Lancet* 1991; 337:1491.
24. Lippman A, Tomkins DJ, Shime J, Hamerton JL. Canadian multicentre randomized clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. Final report. *Prenat Diagn* 1992; 12:385.
25. Borrell A, Fortuny A, Lazaro L, et al. First-trimester transcervical chorionic villus sampling by biopsy forceps versus mid-trimester amniocentesis: a randomized controlled trial project. *Prenat Diagn* 1999; 19:1138.
26. van den Berg C, Van Opstal D, Brandenburg H, et al. Accuracy of abnormal karyotypes after the analysis of both short- and long-term culture of chorionic villi. *Prenat Diagn* 2000; 20:956.
27. Papp C, Beke A, Mezei G, et al. Chorionic villus sampling: a 15-year experience. *Fetal Diagn Ther* 2002; 17:218.
28. Scott F, Peters H, Boogert T, et al. The loss rates for invasive prenatal testing in a specialised obstetric ultrasound practice. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2002; 42:55.
29. Silver RK, MacGregor SN, Sholl JS, et al. An evaluation of the chorionic villus sampling learning curve. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:917.
30. Wulff CB, Gerds TA, Rode L, et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147,987 singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47:38.
31. Gil MM, Molina FS, Rodríguez-Fernández M, et al. New approach for estimating risk of miscarriage after chorionic villus sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2020; 56:656.
32. Caughey AB, Hopkins LM, Norton ME. Chorionic villus sampling compared with amniocentesis and the difference in the rate of pregnancy loss. *Obstet Gynecol* 2006; 108:612.
33. Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SE, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Engl J Med* 1989; 320:609.
34. Bakker M, Birnie E, Robles de Medina P, et al. Total pregnancy loss after chorionic villus sampling and amniocentesis: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:599.
35. Hahnemann JM, Vejerslev LO. Accuracy of cytogenetic findings on chorionic villus sampling (CVS)--diagnostic consequences of CVS mosaicism and non-mosaic discrepancy in centres contributing to EUCROMIC 1986-1992. *Prenat Diagn* 1997; 17:801.
36. van den Berg C, Van Opstal D, Polak-Knook J, Galjaard RJ. (Potential) false-negative diagnoses in chorionic villi and a review of the literature. *Prenat Diagn* 2006; 26:401.
37. Los FJ, van Den Berg C, Wildschut HI, et al. The diagnostic performance of cytogenetic investigation in amniotic fluid cells and chorionic villi. *Prenat Diagn* 2001; 21:1150.
38. Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL, et al. The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Hum Reprod Update* 2014; 20:571.
39. Sikkema-Raddatz B, Bouman K, Verschuuren-Bemelmans CC, et al. Four years' cytogenetic experience with the culture of chorionic villi. *Prenat Diagn* 2000; 20:950.
40. Stetten G, Escallon CS, South ST, et al. Reevaluating confined placental mosaicism. *Am J Med Genet A* 2004; 131:232.
41. Phillips OP, Tharapel AT, Lerner JL, et al. Risk of fetal mosaicism when placental mosaicism is diagnosed by chorionic villus sampling. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:850.
42. Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, et al. Interpreting mosaicism in chorionic villi: results of a monocentric series of 1001 mosaics in chorionic villi with follow-up amniocentesis. *Prenat Diagn* 2015; 35:1117.
43. Kalousek DK, Vekemans M. Confined placental mosaicism. *J Med Genet* 1996; 33:529.
44. Wilkins-Haug L, Quade B, Morton CC. Confined placental mosaicism as a risk factor among newborns with fetal growth restriction. *Prenat Diagn* 2006; 26:428.
45. Valentino LA, Mamonov V, Hellmann A, et al. A randomized comparison of two prophylaxis regimens and a paired comparison of on-demand and prophylaxis treatments in hemophilia A management. *J Thromb Haemost* 2012; 10:359.

46. Neiswanger K, Hohler PM, Hively-Thomas LB, et al. Variable outcomes in mosaic trisomy 16: five case reports and literature analysis. *Prenat Diagn* 2006; 26:454.
47. Kalousek DK, Howard-Peebles PN, Olson SB, et al. Confirmation of CVS mosaicism in term placentae and high frequency of intrauterine growth retardation association with confined placental mosaicism. *Prenat Diagn* 1991; 11:743.
48. Van Opstal D, Van den Berg C, Deelen WH, et al. Prospective prenatal investigations on potential uniparental disomy in cases of confined placental trisomy. *Prenat Diagn* 1998; 18:35.
49. Mastroiacovo P, Botto LD, Cavalcanti DP, et al. Limb anomalies following chorionic villus sampling: a registry based case-control study. *Am J Med Genet* 1992; 44:856.
50. Dolk H, Bertrand F, Lechat MF. Chorionic villus sampling and limb abnormalities. The EURO-CAT Working Group. *Lancet* 1992; 339:876.
51. Report of National Institute of Child Health and Human Development Workshop on Chorionic Villus Sampling and Limb and Other Defects, October 20, 1992. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:1.
52. Olney RS, Khoury MJ, Alo CJ, et al. Increased risk for transverse digital deficiency after chorionic villus sampling: results of the United States Multistate Case-Control Study, 1988-1992. *Teratology* 1995; 51:20.
53. Firth H. Chorion villus sampling and limb deficiency--cause or coincidence? *Prenat Diagn* 1997; 17:1313.
54. Brambati B, Lanzani A, Oldrini A. Transabdominal chorionic villus sampling. Clinical experience of 1159 cases. *Prenat Diagn* 1988; 8:609.
55. Hogge WA, Schonberg SA, Golbus MS. Chorionic villus sampling: experience of the first 1000 cases. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:1249.
56. Somigliana E, Bucciari AM, Tibaldi C, et al. Early invasive diagnostic techniques in pregnant women who are infected with the HIV: a multicenter case series. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:437.
57. Floridia M, Masuelli G, Meloni A, et al. Amniocentesis and chorionic villus sampling in HIV-infected pregnant women: a multicentre case series. *BJOG* 2016.
58. Brambati B, Oldrini A, Ferrazzi E, Lanzani A. Chorionic villus sampling: an analysis of the obstetric experience of 1,000 cases. *Prenat Diagn* 1987; 7:157.
59. Minna T, Mika G, Tiina L, et al. Risk for placental abruption following amniocentesis and chorionic villus sampling. *Prenat Diagn* 2011; 31:410.
60. Silver RK, Wilson RD, Philip J, et al. Late first-trimester placental disruption and subsequent gestational hypertension/preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2005; 105:587.
61. Adusumalli J, Han CS, Beckham S, et al. Chorionic villus sampling and risk for hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196:591.e1.
62. Grobman WA, Auger M, Shulman LP, Elias S. The association between chorionic villus sampling and preeclampsia. *Prenat Diagn* 2009; 29:800.
63. Odibo AO, Singla A, Gray DL, et al. Is chorionic villus sampling associated with hypertensive disorders of pregnancy? *Prenat Diagn* 2010; 30:9.
64. Khalil A, Akolekar R, Pandya P, et al. Chorionic villus sampling at 11 to 13 weeks of gestation and hypertensive disorders in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2010; 116:374.
65. Schaap AH, van der Pol HG, Boer K, et al. Long-term follow-up of infants after transcervical chorionic villus sampling and after amniocentesis to compare congenital abnormalities and health status. *Prenat Diagn* 2002; 22:598.
66. Cederholm M, Haglund B, Axelsson O. Infant morbidity following amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal karyotyping. *BJOG* 2005; 112:394.
67. Locatelli A, Vergani P, Bellini P, et al. Amnioreduction in emergency cerclage with prolapsed membranes: comparison of two methods for reducing the membranes. *Am J Perinatol* 1999; 16:73.
68. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, Society for Maternal–Fetal Medicine. Practice Bulletin No. 162: Prenatal Diagnostic Testing for Genetic Disorders. *Obstet Gynecol* 2016; 127:e108.

69. Lawin O'Brien A, Dall'Asta A, Tapon D, et al. Gestation related karyotype, QF-PCR and CGH-array failure rates in diagnostic amniocentesis. *Prenat Diagn* 2016; 36:708.
70. American College of Medical Genetics. Available at: www.acmg.net//AM/Template.cfm?Section=Home3 (Accessed on October 28, 2008).
71. Tabor A, Philip J, Madsen M, et al. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1:1287.
72. Kappel B, Nielsen J, Brogaard Hansen K, et al. Spontaneous abortion following mid-trimester amniocentesis. Clinical significance of placental perforation and blood-stained amniotic fluid. *Br J Obstet Gynaecol* 1987; 94:50.
73. Bombard AT, Powers JF, Carter S, et al. Procedure-related fetal losses in transplacental versus nontransplacental genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:868.
74. Andreasen E, Kristoffersen K. Incidence of spontaneous abortion after amniocentesis: influence of placental localization and past obstetric and gynecologic history. *Am J Perinatol* 1989; 6:268.
75. Reid KP, Gurrin LC, Dickinson JE, et al. Pregnancy loss rates following second trimester genetic amniocentesis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1999; 39:281.
76. Kalogiannidis I, Prapa S, Dagklis T, et al. Amniocentesis-related adverse outcomes according to placental location and risk factors for fetal loss after midtrimester amniocentesis. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2011; 38:239.
77. Crane JP, Kopta MM. Genetic amniocentesis: impact of placental position upon the risk of pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150:813.
78. Giorlandino C, Mobili L, Bilancioni E, et al. Transplacental amniocentesis: is it really a higher-risk procedure? *Prenat Diagn* 1994; 14:803.
79. Kong CW, Leung TN, Leung TY, et al. Risk factors for procedure-related fetal losses after mid-trimester genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 2006; 26:925.
80. 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.
81. Pitukkiironnakkorn S, Promsonthi P, Panburana P, et al. Fetal loss associated with second trimester amniocentesis. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 284:793.
82. Corrado F, Cannata ML, La Galia T, et al. Pregnancy outcome following mid-trimester amniocentesis. *J Obstet Gynaecol* 2012; 32:117.
83. Harris A, Monga M, Wicklund CA, et al. Clinical correlates of pain with amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:542.
84. Van Schoubroeck D, Verhaeghe J. Does local anesthesia at mid-trimester amniocentesis decrease pain experience? A randomized trial in 220 patients. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16:536.
85. Gordon MC, Ventura-Braswell A, Higby K, Ward JA. Does local anesthesia decrease pain perception in women undergoing amniocentesis? *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196:55.e1.
86. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Analgesia for amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; :CD008580.
87. Athanasiadis AP, Pantazis K, Goulis DG, et al. Comparison between 20G and 22G needle for second trimester amniocentesis in terms of technical aspects and short-term complications. *Prenat Diagn* 2009; 29:761.
88. Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe? *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:607.
89. Calda P, Brestak M. Amniocentesis vs standard syringe technique for amniocentesis: experience with 1219 cases. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201:593.e1.
90. Antsaklis A, Papantoniou N, Xygakis A, et al. Genetic amniocentesis in women 20-34 years old: associated risks. *Prenat Diagn* 2000; 20:247.
91. Hankins GD, Rowe J, Quirk JG Jr, et al. Significance of brown and/or green amniotic fluid at the time of second trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1984; 64:353.

92. Zorn EM, Hanson FW, Greve LC, et al. Analysis of the significance of discolored amniotic fluid detected at midtrimester amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:1234.
93. Hess LW, Anderson RL, Golbus MS. Significance of opaque discolored amniotic fluid at second-trimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1986; 67:44.
94. Odibo AO, Gray DL, Dicke JM, et al. Revisiting the fetal loss rate after second-trimester genetic amniocentesis: a single center's 16-year experience. *Obstet Gynecol* 2008; 111:589.
95. Midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. *JAMA* 1976; 236:1471.
96. Cassell GH, Davis RO, Waites KB, et al. Isolation of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* from amniotic fluid at 16-20 weeks of gestation: potential effect on outcome of pregnancy. *Sex Transm Dis* 1983; 10:294.
97. Gray DJ, Robinson HB, Malone J, Thomson RB Jr. Adverse outcome in pregnancy following amniotic fluid isolation of *Ureaplasma urealyticum*. *Prenat Diagn* 1992; 12:111.
98. Isada NB, Koppitch FC 3rd, Johnson MP, Evans MI. Does the color of amniotic fluid still matter? *Fetal Diagn Ther* 1990; 5:165.
99. Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, et al. Prenatal genetic diagnosis in 3000 amniocenteses. *N Engl J Med* 1979; 300:157.
100. Perni SC, Vardhana S, Korneeva I, et al. *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in midtrimester amniotic fluid: association with amniotic fluid cytokine levels and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:1382.
101. Nguyen DP, Gerber S, Hohlfeld P, et al. *Mycoplasma hominis* in mid-trimester amniotic fluid: relation to pregnancy outcome. *J Perinat Med* 2004; 32:323.
102. Berg TG, Philpot KL, Welsh MS, et al. *Ureaplasma/Mycoplasma*-infected amniotic fluid: pregnancy outcome in treated and nontreated patients. *J Perinatol* 1999; 19:275.
103. Horowitz S, Mazor M, Romero R, et al. Infection of the amniotic cavity with *Ureaplasma urealyticum* in the midtrimester of pregnancy. *J Reprod Med* 1995; 40:375.
104. Gold RB, Goyert GL, Schwartz DB, et al. Conservative management of second-trimester post-amniocentesis fluid leakage. *Obstet Gynecol* 1989; 74:745.
105. Borgida AF, Mills AA, Feldman DM, et al. Outcome of pregnancies complicated by ruptured membranes after genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:937.
106. Simpson JL, Socol ML, Aladjem S, Elias S. Normal fetal growth despite persistent amniotic fluid leakage after genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 1981; 1:277.
107. Crane JP, Rohland BM. Clinical significance of persistent amniotic fluid leakage after genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 1986; 6:25.
108. Levine D, Callen PW, Pender SG, et al. Chorioamniotic separation after second-trimester genetic amniocentesis: importance and frequency. *Radiology* 1998; 209:175.
109. Sant-Cassia LJ, MacPherson MB, Tyack AJ. Midtrimester amniocentesis: is it safe? A single centre controlled prospective study of 517 consecutive amniocenteses. *Br J Obstet Gynaecol* 1984; 91:736.
110. Isenberg SJ, Heckenlively JR. Traumatized eye with retinal damage from amniocentesis. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1985; 22:65.
111. Admoni MM, BenEzra D. Ocular trauma following amniocentesis as the cause of leukocoria. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1988; 25:196.
112. Cederholm M, Haglund B, Axelsson O. Infant morbidity following amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal karyotyping. *BJOG* 2005; 112:394.
113. Vedantam R, Douglas DL. Congenital dislocation of the knee as a consequence of persistent amniotic fluid leakage. *Br J Clin Pract* 1994; 48:342.
114. Baird PA, Yee IM, Sadovnick AD. Population-based study of long-term outcomes after amniocentesis. *Lancet* 1994; 344:1134.
115. Giorlandino C, Bilancioni E, D'Alessio P, Muzii L. Risk of iatrogenic fetal infection at prenatal diagnosis. *Lancet* 1994; 343:922.
116. Minola E, Maccabruni A, Pacati I, Martinetti M. Amniocentesis as a possible risk factor for mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* 2001; 33:1341.

117. Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, et al. Obstetric factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. SEROGEST French Pediatric HIV Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:661.
118. Cohen, J, Dussaix E, Bernard O. Transmission du virus de l'hépatite C de la mere a l'enfant: une etude de 44 enfants. *Gastroenterol Clin Biol* 1998; 22:179.
119. Mandelbrot L, Jasseron C, Ekoukou D, et al. 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.
120. Constantatos SN, Boutall AH, Stewart CJ. Recommendations for amniocentesis in HIV-positive women. *S Afr Med J* 2014; 104:844.
121. Yi W, Pan CQ, Hao J, et al. Risk of vertical transmission of hepatitis B after amniocentesis in HBs antigen-positive mothers. *J Hepatol* 2014; 60:523.
122. Han Z, Zhang Y, Bai X, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus after amniocentesis: A retrospective matched cohort study. *Prenat Diagn* 2019; 39:431.
123. Gagnon A, Davies G, Wilson RD, GENETICS COMMITTEE. Prenatal invasive procedures in women with hepatitis B, hepatitis C, and/or human immunodeficiency virus infections. *J Obstet Gynaecol Can* 2014; 36:648.
124. Winsor EJ, Tomkins DJ, Kalousek D, et al. Cytogenetic aspects of the Canadian early and mid-trimester amniotic fluid trial (CEMAT). *Prenat Diagn* 1999; 19:620.
125. Bui TH, Iselius L, Lindsten J. European collaborative study on prenatal diagnosis: mosaicism, pseudomosaicism and single abnormal cells in amniotic fluid cell cultures. *Prenat Diagn* 1984; 4 Spec No:145.
126. Hsu LY, Kaffe S, Jenkins EC, et al. Proposed guidelines for diagnosis of chromosome mosaicism in amniocytes based on data derived from chromosome mosaicism and pseudomosaicism studies. *Prenat Diagn* 1992; 12:555.
127. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2006; 108:1067.
128. Mazza V, Pati M, Bertucci E, et al. Age-specific risk of fetal loss post second trimester amniocentesis: analysis of 5043 cases. *Prenat Diagn* 2007; 27:180.
129. Halliday JL, Lumley J, Sheffield LJ, et al. Importance of complete follow-up of spontaneous fetal loss after amniocentesis and chorion villus sampling. *Lancet* 1992; 340:886.
130. Bakker M, Birnie E, Robles de Medina P, et al. Total pregnancy loss after chorionic villus sampling and amniocentesis: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:599.
131. Welch RA, Salem-Elgharib S, Wiktor AE, et al. Operator experience and sample quality in genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194:189.
132. 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.
133. Lindgren P, Cederholm M, Haglund B, Axelsson O. Invasive procedures for fetal karyotyping: no cause of subsequent gestational hypertension or pre-eclampsia. *BJOG* 2010; 117:1422.
134. Mazza V, Pati M, Bertucci E, et al. Second trimester amniocentesis is not a risk factor for very low birth weight and extremely low birth weight. *ISRN Obstet Gynecol* 2011; 2011:313206.
135. Cederholm M, Haglund B, Axelsson O. Maternal complications following amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal karyotyping. *BJOG* 2003; 110:392.
136. Weisz B, Rodeck CH. Invasive diagnostic procedures in twin pregnancies. *Prenat Diagn* 2005; 25:751.
137. Rustico MA, Baietti MG, Coviello D, et al. Managing twins discordant for fetal anomaly. *Prenat Diagn* 2005; 25:766.
138. Simonazzi G, Curti A, Farina A, et al. Amniocentesis and chorionic villus sampling in twin gestations: which is the best sampling technique? *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:365.e1.
139. Jeanty P, Shah D, Roussis P. Single-needle insertion in twin amniocentesis. *J Ultrasound Med* 1990; 9:511.

140. van Vugt JM, Nieuwint A, van Geijn HP. Single-needle insertion: an alternative technique for early second-trimester genetic twin amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1995; 10:178.
141. Buscaglia M, Ghisoni L, Bellotti M, et al. Genetic amniocentesis in biamniotic twin pregnancies by a single transabdominal insertion of the needle. *Prenat Diagn* 1995; 15:17.
142. Sebire NJ, Noble PL, Odibo A, et al. Single uterine entry for genetic amniocentesis in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7:26.
143. Vink J, Fuchs K, D'Alton ME. Amniocentesis in twin pregnancies: a systematic review of the literature. *Prenat Diagn* 2012; 32:409.
144. Di Mascio D, Khalil A, Rizzo G, et al. Risk of fetal loss following amniocentesis or chorionic villus sampling in twin pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2020; 56:647.
145. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), Berry SM, Stone J, et al. Fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209:170.
146. Tanvisut R, Wanapirak C, Piyamongkol W, et al. Cordocentesis-associated fetal loss and risk factors: single-center experience with 6650 cases. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2020; 56:664.
147. Mouw RJ, Klumper F, Hermans J, et al. Effect of atracurium or pancuronium on the anemic fetus during and directly after intravascular intrauterine transfusion. A double blind randomized study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78:763.
148. Tangshewinsirikul C, Wanapirak C, Piyamongkol W, et al. Effect of cord puncture site in cordocentesis at mid-pregnancy on pregnancy outcomes. *Prenat Diagn* 2011; 31:861.
149. Weiner CP. Cordocentesis for diagnostic indications: two years' experience. *Obstet Gynecol* 1987; 70:664.
150. Weiner CP, Wenstrom KD, Sipes SL, Williamson RA. Risk factors for cordocentesis and fetal intravascular transfusion. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:1020.
151. Nicolini U, Nicolaidis P, Fisk NM, et al. Fetal blood sampling from the intrahepatic vein: analysis of safety and clinical experience with 214 procedures. *Obstet Gynecol* 1990; 76:47.
152. Aina-Mumuney AJ, Holcroft CJ, Blakemore KJ, et al. Intrahepatic vein for fetal blood sampling: one center's experience. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198:387.e1.
153. Chinnaiya A, Venkat A, Dawn C, et al. Intrahepatic vein fetal blood sampling: current role in prenatal diagnosis. *J Obstet Gynaecol Res* 1998; 24:239.
154. Antsaklis AI, Papantoniou NE, Mesogitis SA, et al. Cardiocentesis: an alternative method of fetal blood sampling for the prenatal diagnosis of hemoglobinopathies. *Obstet Gynecol* 1992; 79:630.
155. Westgren M, Selbing A, Stangenberg M. Fetal intracardiac transfusions in patients with severe rhesus isoimmunisation. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988; 296:885.
156. Nicolaidis KH, Clewell WH, Rodeck CH. Measurement of human fetoplacental blood volume in erythroblastosis fetalis. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:50.
157. Anastasio HB, Mardis R, Khalifeh A, et al. Time advantage of HemoCue versus traditional complete blood count during cordocentesis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2021; 34:1914.
158. Forestier F, Cox WL, Daffos F, Rainaut M. The assessment of fetal blood samples. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158:1184.
159. Ogur G, Gül D, Ozen S, et al. Application of the 'Apt test' in prenatal diagnosis to evaluate the fetal origin of blood obtained by cordocentesis: results of 30 pregnancies. *Prenat Diagn* 1997; 17:879.
160. Sepulveda W, Be C, Youlton R, et al. Accuracy of the haemoglobin alkaline denaturation test for detecting maternal blood contamination of fetal blood samples for prenatal karyotyping. *Prenat Diagn* 1999; 19:927.
161. Lazebnik N, Hendrix PV, Ashmead GG, et al. Detection of fetal blood contamination by amniotic fluid obtained during cordocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:78.
162. Chao A, Herd JP, Tabsh KM. The ferning test for detection of amniotic fluid contamination in umbilical blood samples. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:1207.
163. Orlandi F, Damiani G, Jakil C, et al. The risks of early cordocentesis (12-21 weeks): analysis of 500 procedures. *Prenat Diagn* 1990; 10:425.

164. Daffos F, Forestier F, Kaplan C, Cox W. Prenatal diagnosis and management of bleeding disorders with fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158:939.
165. Paidas MJ, Berkowitz RL, Lynch L, et al. Alloimmune thrombocytopenia: fetal and neonatal losses related to cordocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:475.
166. Gruel Y, Boizard B, Daffos F, et al. Determination of platelet antigens and glycoproteins in the human fetus. *Blood* 1986; 68:488.
167. Takashima T, Maeda H, Koyanagi T, et al. Prenatal diagnosis and obstetrical management of May-Hegglin anomaly: a case report. *Fetal Diagn Ther* 1992; 7:186.
168. Lorenz P, Bollmann R, Hinkel GK, et al. False-negative prenatal exclusion of Wiskott-Aldrich syndrome by measurement of fetal platelet count and size. *Prenat Diagn* 1991; 11:819.
169. Ash KM, Mibashan RS, Nicolaides KH. Diagnosis and treatment of feto-maternal hemorrhage in a fetus with homozygous von Willebrand's disease. *Fetal Ther* 1988; 3:189.
170. Bussel, J. Minutes of the Neonatal Subcommittee of the International Committee of Thrombosis and Hemostasis Working Party on Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia, Brussels, Belgium, 1987.
171. Nicolini U, Kochenour NK, Greco P, et al. Consequences of fetomaternal haemorrhage after intrauterine transfusion. *BMJ* 1988; 297:1379.
172. Weiner C, Grant S, Hudson J, et al. Effect of diagnostic and therapeutic cordocentesis on maternal serum alpha-fetoprotein concentration. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:706.
173. Chitrit Y, Caubel P, Lusina D, et al. Detection and measurement of fetomaternal hemorrhage following diagnostic cordocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1998; 13:253.
174. Boulot P, Deschamps F, Lefort G, et al. Pure fetal blood samples obtained by cordocentesis: technical aspects of 322 cases. *Prenat Diagn* 1990; 10:93.
175. Ludomirsky A, Weiner S, Ashmead GG, et al. Percutaneous fetal umbilical blood sampling: procedure safety and normal fetal hematologic indices. *Am J Perinatol* 1988; 5:264.
176. Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, et al. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98:892.
177. Ghidini A, Sepulveda W, Lockwood CJ, Romero R. Complications of fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168:1339.
178. Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikantikul C, et al. Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184:719.
179. Tongsong T, Wanapirak C, Piyamongkol W, et al. Second-trimester cordocentesis and the risk of small for gestational age and preterm birth. *Obstet Gynecol* 2014; 124:919.
180. Antsaklis A, Daskalakis G, Papantoniou N, Michalas S. Fetal blood sampling--indication-related losses. *Prenat Diagn* 1998; 18:934.
181. Bigelow CA, Cinelli CM, Little SE, et al. Percutaneous umbilical blood sampling: current trends and outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016; 200:98.
182. Liao C, Wei J, Li Q, et al. Efficacy and safety of cordocentesis for prenatal diagnosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 93:13.