

Recomendações Práticas ISUOG: procedimento invasivo para diagnóstico pré-natal

Tradução para o português (Brasil): Victor P. Campos¹, Wellington P. Martins^{1,2}

1. FATESA/EURP, Faculdade de Tecnologia em Saúde, Escola de Ultrassonografia, Ribeirão Preto/SP – Brasil; 2. SEMEAR Fertilidade, Medicina Reprodutiva, Ribeirão Preto/SP – Brasil.

Comitê de Padronização Clínica

A Sociedade Internacional de Ultrassonografia em Obstetrícia e Ginecologia (ISUOG) é uma organização científica que incentiva a boa prática clínica, o ensino e pesquisas de alta qualidade relacionadas ao diagnóstico por imagem na área da saúde da mulher. O Comitê de Padronização Clínica ISUOG (CSC) tem a missão de desenvolver Diretrizes práticas e Consensos como recomendações educacionais que forneçam aos profissionais de saúde uma abordagem baseada em consenso. Eles são destinados a refletir o que é considerado pela ISUOG ser a melhor prática no momento em que são emitidos. Embora a ISUOG faça todos os esforços para garantir que as orientações sejam precisas quando emitidas, nem a sociedade nem qualquer de seus empregados ou membros aceita qualquer responsabilidade pelas consequências de qualquer informação imprecisa ou que leve ao engano, opiniões ou declarações emitidas pelo CSC. Os documentos do CSC da ISUOG não se destinam a estabelecer um padrão legal de cuidado, porque a interpretação da evidência que sustenta as orientações pode ser influenciada por circunstâncias individuais, protocolos locais e recursos disponíveis. Diretrizes aprovadas podem ser distribuídas livremente com a permissão da ISUOG (info@isuog.org).

INTRODUÇÃO

O objetivo deste documento é descrever os principais aspectos dos procedimentos invasivos para o diagnóstico pré-natal. Problemas técnicos e indicações clínicas, capacidades de diagnóstico e possíveis complicações são consideradas à luz da literatura disponível. Nesta nova era dominada pelo teste de DNA fetal livre das células (cffDNA), o número de procedimentos invasivos está diminuindo dramaticamente, com impacto considerável na prática clínica.

A presente diretriz resume as informações atuais, com referência a quando, como e por que os profissionais realizam procedimentos invasivos para o diagnóstico pré-natal. Detalhes dos graus de recomendação e níveis de evidência utilizados são fornecidos no Apêndice 1.

1. AMNIOCENTESE

- A amniocentese deve ser realizada a partir de 15⁺⁰ semanas completas de gestação (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: A).
- Uma agulha de 20–22-G deve ser inserida por via transabdominal, guiada continuamente por ultrassom (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: B).
- A entrada da agulha no local da inserção do cordão na placenta deve ser evitada e, se tecnicamente viável, é preferível evitar a placenta, especialmente em mulheres Rhesus (Rh) negativo (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: C).
- A frequência de contaminação por células maternas aumenta com a presença de líquido amniótico contendo sangue e quanto menos experiente for o operador. Para minimizar a

contaminação com células maternas, os primeiros 2 mL de líquido devem ser descartados (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: C).

Amniocentese se refere à aspiração transabdominal de líquido amniótico da cavidade uterina. Este procedimento vem sendo realizado desde 1970¹.

Técnica

Uma agulha de 20–22-G deve ser inserida por via transabdominal, guiada continuamente por ultrassom²⁻⁵. Sugere-se punção firme na entrada, para evitar repuxar a membrana amniótica³ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 1-). Um ensaio clínico randomizado (ECR) (n = 200) comparando agulhas de 20-G e 22-G para amniocentese demonstrou taxas de sangramento intrauterino semelhantes (4/100 vs 8/100), porém a de maior calibre (20-G) foi associada à retirada mais rápida do líquido⁶ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Estudo retrospectivo (n = 793) relatou taxas similares de perdas fetais com agulhas de 20-G (1.57%), 21-G (1.47%) e 22-G (1.61%)⁷.

O impacto do transcurso da agulha pela placenta foi estudado em coortes retrospectivas. As taxas de perdas fetais foram similares quando utilizadas abordagens através da placenta ou através da membrana, porém a passagem transplacentária foi associada a maiores taxas de sangramento⁸⁻¹¹. Mesmo assim, atualmente recomenda-se que a entrada próximo da inserção placentária do cordão seja evitada e, se tecnicamente viável, é preferível evitar a placenta (especialmente em mulheres Rh negativo)^{2-7,12} (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 1+).

Uma vez que a agulha alcança o interior da cavidade amniótica, o mandril é removido e 15–30 mL de líquido (dependendo da indicação) são aspirados. A aspiração do líquido pode ser feita pelo operador, por um assistente ou por dispositivo a vácuo^{3,13}.

Células maternas podem ser encontradas em amostras de líquido amniótico, estudos mais antigos relataram cerca de uma em cada duas amostras podendo conter mais de 20% de células maternas, uma proporção que chega a 50% ou mais em amostras contendo sangue¹⁴. Em estudo retrospectivo de 150 amostras, fatores associados a altas taxas de contaminação foram a entrada transplacentária (6.0% vs 1.0%), dupla punção (27.5% vs 2.0%) e inexperiência do operador¹⁵. A frequência de contaminação por células maternas mostrou-se muito menor (0.35%) em série recente de 6332 amostras¹⁶. Para minimizar a contaminação por células maternas, é recomendável que os primeiros 2 mL de líquido sejam descartados¹⁷ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 2+).

Período

A segurança e confiabilidade diagnóstica da amniocentese precoce (< 14⁺⁰ semanas) versus no segundo trimestre (> 15⁺⁰ semanas) foram estudadas em Ensaios Clínicos Randomizados (ECRs) nos anos 90. Embora um estudo (n = 695) tenha indicado taxas semelhantes de perdas gestacionais (7,8% vs 7,4%) e defeitos congênitos fetais (2,4% vs 2,6%)^{18,19}, um ECR multicêntrico maior (n = 4374) mostrou que a amniocentese precoce (11⁺⁰ a 12⁺⁶ semanas) foi associada a uma taxa significativamente maior de perdas fetais (7,6% vs 5,9%), pé torto congênito (1,3% vs 0,1%) e perda líquida pós-procedimento (3,5% vs 1,7%), em comparação com a amniocentese no segundo trimestre (15⁺⁰ a 16⁺⁶ semanas)^{20,21}. Isto pode ser devido à presença do celoma extraembrionário no primeiro trimestre ou à quantidade reduzida de líquido amniótico na cavidade. Como resultado dessas preocupações, os órgãos científicos e profissionais recomendam atualmente que a amniocentese deve ser realizada a partir de 15⁺⁰ semanas completas de gestação^{2,17,22} (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 1+).

Aspectos laboratoriais

A falha na cultura de células amnióticas é relatada em menos de 0,1% dos procedimentos. Líquido amniótico contendo sangue e idade gestacional tardia na amniocentese aumentam o

risco de falha da cultura¹⁷. O mosaïcismo de células amnióticas é observado em 0,25% dos procedimentos¹⁷. Nestes casos, recomenda-se o aconselhamento genético e, dependendo do resultado, uma amostra de sangue fetal (ASF) pode ser indicada para excluir um mosaïcismo fetal verdadeiro¹⁷. O risco de falha da cultura também aumenta com a idade gestacional avançada. Um estudo retrospectivo com amniocentese após 28 semanas de gestação relatou uma taxa de falha de 9,7%²³ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Complicações

- Para mulheres submetidas à amniocentese, foi relatado que o risco adicional de perda fetal em relação ao controle varia entre 0.1% e 1%, com relatos recentes próximos do limite inferior (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: B).
- O risco de rotura prematura de membranas após a amniocentese é de 1–2%; O prognóstico pode ser melhor que os casos de rotura prematura espontânea (ROPREMA) pré-termo (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: B).
- Injúria fetal e sérias complicações maternas são eventos raros (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: D).
- A experiência e familiaridade com a amniocentese podem diminuir o risco de perda fetal relacionada ao procedimento. Tentativas múltiplas, líquido amniótico contendo sangue e a presença de anormalias fetais podem aumentar o risco de perda fetal. O efeito de outros fatores de risco é menos consistente (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: C).

Perda fetal

A maioria dos dados sobre taxa de perda fetal após amniocentese são derivados de estudos observacionais. Há apenas um ECR, dinamarquês, de 1986, no qual 4606 gestantes de baixo risco foram randomizadas para amniocentese ou conduta expectante. A taxa de perda fetal foi de 1,7% no grupo da amniocentese versus 0,7% no grupo controle, resultando em risco líquido relacionado ao procedimento de 1,0%¹² (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 1+). Diversos estudos observacionais que se seguiram relataram menores ou maiores riscos, e recente meta-análise calculou que o risco ponderado adicional de perda gestacional relacionado à amniocentese é de 0,11% (95% IC, -0.04 a 0.26%)²⁴ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 2++). Uma revisão da Dinamarca de 147987 procedimentos invasivos, publicada em 2016, relatou uma taxa de abortamento de 0,56% em 28 dias e um risco de natimorto de 0,09% dentro de 42 dias após a amniocentese²⁵ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 2++).

Perda líquida

O risco de perda líquida após amniocentese é aumentado até 24 semanas de gestação. É relatado que sua ocorrência varia entre 1 e 2%^{17,19,26}. Entretanto, em mulheres com perda líquida após amniocentese, comumente se observa a restauração espontânea das membranas e, em comparação com casos de rotura espontânea de membranas na mesma idade gestacional, o risco de perda perinatal é substancialmente menor²⁷ (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 2++).

Corioamnionite

O risco de corioamnionite e infecção uterina após amniocentese genética é baixo (<0,1%)¹⁷.

Lesão pela agulha

A ocorrência de lesão por agulha no feto é extremamente rara¹⁷. Foram reportadas lesões esporádicas em relatos mais antigos, particularmente em procedimentos não guiados, que incluíram trauma ocular²⁸, lesões cutâneas (depressões e cicatrizes)^{29,30}, trauma em tendões²⁹, trauma vascular³¹ e lesão cerebral (incluindo porencefalia)^{32,33} (NIVEL DE EVIDÊNCIA: 3).

Comment [FC1]: Original guideline: (95% CI, -0.04 to 0.26%)²⁴

Complicações maternas

Complicações maternas graves relacionadas à amniocentese, incluindo sepse ou mesmo morte, foram relatadas em um pequeno número de casos³⁴⁻³⁸. Esses eventos podem ser causados por punção inadvertida do intestino. Além disso, microrganismos podem colonizar o gel e as sondas de ultrassom e expor ao risco de infecção materna² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 3).

Fatores de risco para complicações

Taxas menores de perda fetal foram documentadas se mais de 100 procedimentos são realizados por ano² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Um maior número de tentativas (três ou mais punções) aumenta o risco de perda fetal. Se mais de duas punções forem necessárias, sugere-se adiar o procedimento em 24 horas^{3,22}.

A presença de anomalias estruturais fetais a priori está associada a um risco elevado de abortamento espontâneo, que aumenta ainda mais após a amniocentese²². Uma amostra contendo sangue ou maculada (isto é, acastanhada) pode refletir sangramento intra-amniótico atual e sinaliza consistentemente um maior risco de perda fetal. Isto parece ser devido à associação entre hemorragia intra-amniótica e distúrbio placentário oculto (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Opinião de especialistas sugere que a competência de um operador deverá ser revista quando as taxas de perda excederem 4/100 amniocenteses consecutivas^{2,40} (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+).

Vários fatores de risco foram propostos por aumentar o risco de perda fetal após a amniocentese, embora suas associações não foram comprovadas de forma consistente. Estão incluídos neste grupo de fatores de risco plausíveis^{22,41,42}: miomas uterinos; malformações Müllerianas; descolamento cório-amniótico; hematoma retrocorial; sangramento materno prévio ou atual; índice de massa corporal materno > 40 kg/m²; multiparidade (> 3 partos); infecção vaginal manifesta; histórico de três ou mais abortamentos espontâneos (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 + / 2-).

2. BIÓPSIA DE VILO CORIAL (BVC)

- A biópsia de vilos coriais (BVC) deve ser realizada após 10⁺⁰ semanas de gestação (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: A).

- A biópsia de vilos coriais (BVC) pode ser realizada por via transabdominal ou transcervical, de acordo com a experiência do operador, preferência ou localização da placenta.

Não há ECRs comparando a taxa de perda fetal sem BVC e após BVC, mas estudos observacionais indicam que pode ser bastante baixa, variando de 0,2 a 2%

(GRAU DE RECOMENDAÇÃO: B).

- O risco de abortamento espontâneo após BVC parece diminuir conforme aumenta a experiência. Repetidas punções e idade gestacional < 10 semanas aumentam o risco de perda fetal (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: B).

A BVC é a retirada das células trofoblásticas da placenta. Este procedimento foi descrito pela primeira vez na China em meados da década de 1970⁴³ e introduzido na prática clínica no início da década de 1980⁴⁴.

Técnica

A agulha deve ser inserida na placenta guiada continuamente por ultrassom, o que normalmente é possível tanto pela técnica da "mão livre" quanto utilizando um guia de punção. Como faltam dados que comparem a segurança ou eficácia entre estes métodos, a escolha deve ser feita de acordo com a experiência ou preferência do operador^{2,45}.

O acesso à placenta pode ser por via transabdominal ou transcervical. Um ECR em 3873 mulheres com gestação única (idade gestacional entre 7 e 12 semanas, sendo a maioria > 10 semanas) mostrou que as taxas de perda fetal (2,3% vs 2,5%) e de amostragem bem sucedida (95% vs 94%) foram semelhantes entre os dois métodos⁴⁶ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1+).

Abordagem transabdominal. Anestesia local pode ser realizada para BVC por via transabdominal² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4). Uma única agulha de 17-20 G ou um conjunto de duas agulhas, 17/19 G externo e 19/20 G interno, podem ser utilizados⁴⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1-). Uma vez que a agulha atinge o local de interesse na placenta, entre 1 e 10 movimentos de vai-e-vem são realizados, enquanto o vácuo é mantido e as amostras são aspiradas manualmente por um assistente ou por dispositivo a vácuo^{3,45,48}.

Abordagem transcervical. Pinças de biópsia são inseridas através do canal cervical, por via transvaginal, até a área do trofoblasto, ou pode ser utilizado cateter com mandril sob aspiração com seringa³. ECR com 200 mulheres submetidas a BVC entre 10⁺⁰ e 12⁺⁶ semanas relatou trauma placentário e eficácia similares entre as duas técnicas, pinça de biópsia ou cateter (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1-); entretanto, a primeira foi preferida por operadores e pacientes⁴⁹.

A quantidade de vilosidades obtida na amostra deve ser verificada visualmente. A quantidade mínima necessária para se alcançar um resultado válido é de 5 mg de vilosidades em cada amostra³. Falha na amostragem é relatada em 2,5-4,8% dos procedimentos^{2,45}.

Período

BVC não deve ser realizada antes de 10⁺⁰ semanas completas de gestação, devido ao maior risco de perda fetal e complicações antes deste período^{2,17}. Relatórios do início da década de 1990 ressaltaram um aumento da incidência de amputação de membros/micrognatia em fetos submetidos a BVC antes de 10 semanas de gestação, comparados à população geral. Não há evidências suficientes para refutar ou confirmar a causalidade com convicção. Os membros e a mandíbula parecem ser mais susceptíveis à isquemia vascular antes de 10 semanas^{3,50,51} (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 3).

Aspectos laboratoriais

Falha na cultura citotrofoblástica é relatada em menos de 0,5% dos procedimentos em que pelo menos 5 mg de vilosidades coriônicas são obtidas⁴⁹. Em alguns destes casos ocorre contaminação por células decíduais maternas; esta pode ser reduzida separando-se as células decíduais maternas e sangue de vilosidades coriônicas sob visão microscópica⁵² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2-). O mosaicismo de células placentárias é observado em 1% dos procedimentos¹⁷. Nestes casos recomenda-se o aconselhamento genético, e a amniocentese pode ser indicada para diferenciar o mosaicismo fetal verdadeiro daquele confinado à placenta¹⁷.

Complicações

Perda fetal

Não há ECRs disponíveis comparando BVC vs ausência de teste, de modo que toda a evidência sobre o risco de abortamento espontâneo relacionado ao procedimento são de estudos de coorte retrospectivos.

Para as mulheres submetidas a BVC, o risco de perda fetal comparado aos controles variou entre 0,2% e 2%^{2,24}. Este risco parece ser menor em centros especializados e diminuir com o aumento da experiência, variando entre 1/150 e 1 / 500^{2,53}. Estudo retrospectivo do registo dinamarquês, de 31355 casos em BVC, relatou uma taxa de perda fetal de 1,9% após BVC (vs 1,4% após amniocentese); a taxa de abortamento foi inversamente proporcional ao número de procedimentos realizados por departamento, sendo 40% maior para os departamentos com menos de 1500 procedimentos, em comparação àqueles que realizam mais de 1500,

anualmente⁴⁰ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++). Uma atualização de 2016, da mesma base de dados, relatou praticamente nenhum impacto da BVC nas taxas de perda fetal (risco de abortamento espontâneo, 0,21% nos 21 dias após CVS)²⁵ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Este resultado é similar aos achados de um grande estudo retrospectivo comparando a taxa de abortamento em 5243 mulheres submetidas a BVC (2,7%) com a de 4917 controles (3,3%)⁵⁴. De acordo com recente meta-análise, a taxa de perda fetal após BVC parece não estar significativamente aumentada em comparação com a população não exposta (risco combinado < 24 semanas, 0,22% (IC 95%, - 0,71 a 1,16%))²⁴; Esta estimativa não incorpora o estudo dinamarquês de 2016²⁵ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Foi relatada taxa de perda fetal após BVC transcervical de 2,5% em uma série retrospectiva de 1251 procedimentos⁵⁵, e taxas muito semelhantes de abortamento espontâneo (2,5% vs 2,3%) foram relatadas em um grande ECR comparando BVC transcervical com transabdominal⁴⁶ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1+). Um estudo randomizado comparou BVC transabdominal com amniocentese no segundo trimestre e não foram encontradas diferenças significativas na perda gestacional entre os dois procedimentos (6,3% vs 7%, risco relativo (RR), 0,90 (IC 95%, 0,66-1,23))⁵⁶ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1-). Entretanto, meta-análise de quatro estudos randomizados mostrou que, comparada com a amniocentese no segundo trimestre, a BVC transcervical traz um risco significativamente maior de perda gestacional total (RR, 1,40 (IC 95%, 1,09-1,81)) e abortamento espontâneo (RR, 1,50 (IC 95%, 1,07-2,11))⁵⁷.

Sangramento vaginal

Hemorragia vaginal ocorre em 10% dos casos^{52,53}. Sua ocorrência parece ser mais frequente após a abordagem transcervical (até 30% dos casos) do que transabdominal⁵² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2-).

Complicações pouco frequentes

O risco de perda líquida após BVC é extremamente raro, ocorrendo em menos de 0,5% dos procedimentos⁵² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2-). Números claros sobre o risco de perda gestacional nestes casos são escassos. Os riscos de corioamnionite e infecção uterina após BVC são extremamente baixos (1-2/3000)⁵² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2-). Nenhum caso de choque séptico ou morte materna após BVC foi relatado.

Associação com pré-eclâmpsia e restrição de crescimento intrauterino

Houve alguns relatos associando a BVC ao desenvolvimento de pré-eclâmpsia, possivelmente devido à injúria placentária, mas esses achados não foram consistentes entre os estudos, e uma meta-análise demonstrou não haver associação⁵⁸ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Da mesma forma, um estudo caso-controle não detectou associação entre BVC e prejuízo ao crescimento fetal; nestas análises, a maior incidência de pré-eclâmpsia no grupo da BVC foi devida a fatores de confusão maternos e fetais (por exemplo, baixa proteína plasmática A associada à gestação (PAPP-A), aumento da resistência nas artérias uterinas)⁵⁹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+).

Fatores de risco para complicações

Taxas menores de perda fetal foram documentadas se mais de 100 procedimentos são realizados por ano². Opinião de especialistas sugere que a competência de um operador deverá ser revista quando as taxas de perda excederem 8/100 e a falha na amostragem exceder 5/100 BVC consecutivas².

Em grande estudo retrospectivo, fatores associados ao risco aumentado de abortamento após BVC foram etnia materna afro-americana, pelo menos duas aspirações/inserções de agulha, intenso sangramento durante a BVC, idade inferior a 25 anos e idade gestacional <10 semanas⁵⁴ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++). A presença de anomalias estruturais fetais e translucência nucal

(TN) aumentada está associada com um maior risco de abortamento espontâneo². Este risco está aumentado após BVC. Foi sugerido também que baixos níveis de PAPP-A no plasma materno sinalizam um maior risco para perda fetal após BVC. Isto parece ser devido à associação entre baixos níveis de PAPP-A e distúrbio placentário oculto⁶⁰ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2++).

Há uma série de fatores que podem plausivelmente aumentar o risco de perda fetal após BVC, embora suas associações não foram comprovadas de forma consistente. Estão incluídos neste grupo^{3,22}: miomas; idade materna avançada; malformações uterinas; descolamento cório-amniótico; hematoma retrocorial; sangramento materno prévio ou atual; útero retrovertido; bradicardia fetal persistente pós-procedimento (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2-).

3. AMOSTRA DE SANGUE FETAL (ASF)

- A amostra de sangue fetal (ASF) deve ser realizada por via transabdominal após 18⁺⁰ semanas, utilizando uma agulha 20-22-G guiada continuamente por ultrassom.
- As indicações mais frequentes para ASF são a investigação do mosaicismos cromossômico após amniocentese e a avaliação hematológica do feto.
- Fatores associados a um risco aumentado de perda fetal após ASF incluem defeitos estruturais fetais (incluindo hidropsia), restrição de crescimento intrauterino (RCIU) e, possivelmente, idade gestacional < 24 semanas (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: B).

Há relatos de várias abordagens da veia umbilical para ASF, incluindo a cordocentese (na inserção placentária do cordão ou em alça livre) e a punção em seu trajeto intra-hepático, através do fígado fetal. O termo 'cordocentese' se refere à punção do cordão umbilical (veia umbilical) guiada por ultrassom, com finalidade diagnóstica (ASF) ou terapêutica (transfusão intrauterina ou administração de fármacos). A primeira série descrevendo a experiência com ASF foi publicada em 1987⁶¹. A ASF deve ser realizada a partir de 18⁺⁰ semanas completas de gestação, já que o risco de perda fetal é maior antes deste período⁶².

Técnica

Uma agulha de 20-22-G é introduzida por via transabdominal, guiada continuamente por ultrassom, e inserida na veia umbilical. A técnica da "mão livre" é mais frequentemente utilizada, embora o uso de um guia de punção seja preferido por alguns. Se a placenta for anterior, sugere-se uma punção do cordão ao nível da inserção placentária; Se a placenta for posterior, é puncionada uma alça livre do cordão ou a porção intra-abdominal da veia umbilical⁶² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4).

Uma vez que a agulha pareça ter atingido o alvo, infusão com solução fisiológica pode ser utilizada para confirmar sua correta posição. Deve-se ter cuidado para evitar as artérias umbilicais. A aspiração com seringa é realizada pelo operador ou por um assistente até que o sangue seja obtido na amostra. A origem do sangue deve ser confirmada por microscópio (exame hematológico automático) para avaliar o volume corpuscular médio, ou utilizando um teste de acidificação rápida (isto é, Kleihauer Betke ou teste Apt)⁶².

A veia intra-hepática tem sido proposta como alternativa quando o acesso ao cordão é difícil ou há falha da coleta na inserção placentária do cordão⁶³. Vantagens adicionais da ASF na veia intra-hepática incluem ausência de complicações no cordão, diminuição do risco de perda sanguínea fetal e hemorragia feto-materna, e certeza da origem fetal na amostra.

Perda fetal

O risco de perda fetal após ASF é de 1% a 2%⁶⁴⁻⁶⁶. Em grande estudo retrospectivo de 1821 mulheres submetidas a ASF bem-sucedida, o procedimento foi associado a um risco de perda

fetal de 3,2% versus 1,8% para os controles, gerando uma taxa líquida de perda de 1,4%⁶⁴ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Fatores associados a um risco aumentado de perda fetal após ASF incluem anomalias fetais, RCIU e idade gestacional < 24 semanas. Um pequeno estudo retrospectivo encontrou uma taxa de perda fetal de 14% (4/29) em fetos com defeitos estruturais e de 25% (9/36) em fetos com hidropsia, em comparação com apenas 1% (1/76) em fetos com achados ultrassonográficos normais⁶⁵ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++). Estudo retrospectivo semelhante, porém muito maior (n = 1878), também relatou aumento das taxas de perda fetal em fetos com RCIU grave (8,9%) ou anomalias estruturais (13,1%), comparadas com 1% para fetos com achados ultrassonográficos normais⁶⁶ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++). Além disso, uma grande série retrospectiva de 2010 procedimentos de 2010 indicou taxa de perda relacionada à ASF pode ser maior antes das 24 semanas, em comparação ao procedimento após 24 semanas (2,7% vs 1,9%)⁶⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Este procedimento deve ser realizado somente por operadores experientes. Embora não existam dados específicos, espera-se que o risco de complicação ou falha na amostragem diminuam quanto mais experiente for o operador.

4. ELEGIBILIDADE PARA O DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL INVASIVO

- O aconselhamento detalhado deve preceder qualquer procedimento invasivo, abrangendo os benefícios esperados, os riscos e os aspectos técnicos do teste.
- Indicações atualmente válidas para os testes pré-natais invasivos incluem risco aumentado de anomalia cromossômica fetal, risco aumentado de doença hereditária, genética ou metabólica e risco aumentado para algumas infecções perinatais.

Antes de um procedimento de diagnóstico pré-natal, é necessário o aconselhamento pré-teste do casal, que pode ser feito por um especialista em Obstetrícia ou Medicina Fetal, que realiza o procedimento, por um geneticista ou por profissional não-médico inserido na equipe (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4). As seguintes questões devem ser apresentadas e discutidas²: riscos e benefícios do diagnóstico pré-natal invasivo vs rastreamento (screening)^{17,22}; diferenças entre BVC e amniocentese em termos de precisão dos resultados, complicações e diferentes períodos e formas de interrupção da gestação em caso de resultados anormais²²; riscos nacionais e locais estimados de perda gestacional relacionada aos procedimentos; precisão e limitações do(s) teste(s) laboratorial(is) em curso, com informações sobre a taxa de resultados inconclusivos e o intervalo para os resultados; método de comunicação dos resultados; indicações para aconselhamento médico após o teste; necessidade imunização passiva anti-D pós-procedimento em caso de mulher Rh negativo e não imunizada^{2,22}. Ao final deste processo informativo detalhado, deve ser obtido o consentimento por escrito da paciente².

Indicações para amniocentese ou BVC

As seguintes indicações são atualmente consideradas válidas para o diagnóstico pré-natal invasivo por amniocentese ou BVC: risco elevado de aneuploidia fetal, risco elevado de doença genética ou bioquímica fetal conhecidas, infecção materna transmissível, e, em determinadas circunstâncias, solicitação materna.

Risco elevado de aneuploidia fetal (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

O risco elevado pode derivar de um teste de rastreamento (teste combinado no primeiro trimestre; teste cffDNA/teste pré-natal não invasivo (NIPT); bioquímica do segundo trimestre, tais como triplo ou quádruplo; achados ultrassonográficos anormais (anomalia estrutural fetal comumente associada a anomalia cromossômica); história obstétrica (feto ou criança afetada

por aneuploidia) ou história familiar (pais portadores de translocação cromossômica balanceada ou inversão, aneuploidia ou mosaicismo)¹⁷.

Idade materna avançada (> 35 anos) isoladamente não deve ser considerada uma indicação, embora em alguns países ainda esteja entre os critérios aceitos para testes invasivos^{4,17}.

Concepção por reprodução assistida em si não é considerada uma indicação válida para o diagnóstico invasivo. No entanto, em gestações decorrentes de injeção intracitoplasmática de esperma (ICSI) devido a oligospermia, os futuros pais devem ser informados de que existe um risco aumentado de anomalias cromossômicas nos espermatozoides causando a infertilidade, que podem ser transmitidas à prole masculina.

*Risco elevado de doença genética ou bioquímica fetal conhecidas*¹⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

O risco aumentado pode derivar de: doença hereditária familiar com mutação conhecida ou alteração bioquímica; feto masculino em gestante portadora de doença ligada ao cromossomo X; ambos os pais portadores de desordem autossômica recessiva.

*Infecção materna transmissível*¹⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Em caso de primo-infecção materna ou soro-conversão envolvendo o toxoplasma, citomegalovírus ou rubéola, teste invasivo pré-natal pode ser indicado para confirmar ou excluir a transmissão da infecção para o feto.

Solicitação materna (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

O pedido materno como critério isolado normalmente não é considerado como indicação válida para o diagnóstico pré-natal invasivo, exceto em circunstâncias excepcionais, por exemplo quando existir ansiedade extrema dos pais, podendo o especialista em medicina fetal permitir após extenso aconselhamento.

Indicações para ASF (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

As indicações mais comuns para ASF são a investigação do mosaicismo cromossômico após amniocentese e a avaliação hematológica do feto (quantificação de anemia ou contagem de plaquetas/linfócitos)^{17,62}.

Atualmente na prática, as seguintes indicações se tornaram extremamente raras, tendo sido amplamente substituídas por BVC e amniocentese^{17,62}: cariótipo completo; tipagem sanguínea ou perfil de antígenos plaquetários; teste genético; infecção; estudos do plasma ou soro (por exemplo: metabólitos, hormônios).

5. ROTINA ANTES E APÓS O PROCEDIMENTO

- O Rh materno e a presença de aloanticorpos no soro devem ser checados antes de se realizar um procedimento invasivo pré-natal; imunoglobulina anti-D profilática deve ser administrada em mulheres não sensibilizadas dentro de 72 h pós-procedimento, a menos que o suposto pai do feto seja comprovadamente também Rh negativo.
- Triagem materna universal de vírus de transmissão sanguínea (vírus da hepatite B e C (HBV e HCV); vírus da imunodeficiência humana (HIV)) não é recomendada.
- Antibiótico-profilaxia antes do procedimento invasivo não é recomendada atualmente.
- Os princípios fundamentais de assepsia precisam ser observados durante a realização do procedimento invasivo.
- Relatório detalhado sobre o procedimento deve ser disponibilizado ao médico ou profissional de saúde assistente.

Tipagem sanguínea materna e profilaxia Rh (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+)

Todas as diretrizes atuais recomendam o teste para Rh materno e presença de aloanticorpos antes de procedimentos invasivos⁶⁸. Profilaxia Rh é fortemente recomendada após um procedimento invasivo em mulheres Rh-negativas não sensibilizadas com parceiro Rh-positivo (a menos que o feto seja sabidamente Rh-negativo, comprovado pelo teste cffDNA).

Uma única dose intramuscular de anticorpos anti-D em preparo fixo é comumente utilizada⁶⁸. Em série prospectiva de 361 mulheres Rh-negativo que se submeteram a amniocentese, não receberam profilaxia anti-D e conceberam fetos Rh-positivo, cinco (1,4%) tiveram resultado positivo para anticorpo anti-D; nenhum dos recém-nascidos teve repercussão clínica⁶⁹. A respectiva taxa em uma série de 115 mulheres foi de 3,4%; um dentre quatro recém-nascidos necessitou de duas transfusões, mas foi relatado desenvolvimento normal até os 2 anos de idade⁷⁰. No entanto, a profilaxia anti-Rh após amniocentese tem sido recomendada desde o final da década de 1970⁷¹, e em uma série de 944 mulheres Rh-negativo que receberam imunoglobulina anti-D, nenhum caso de sensibilização ocorreu⁷².

Triagem materna de vírus de transmissão sanguínea

O risco de transmissão viral para o feto através do teste invasivo é insignificante, e provavelmente limitado às gestantes com elevada carga viral⁷³.

Profilaxia com antibiótico

Há somente um ECR em administração profilática de antibióticos (Azitromicina) antes da amniocentese (n = 34923): uma taxa menor de abortamento relacionado ao procedimento (0,03%) e rotura prematura de membranas (0,06%) foi observada no grupo da Azitromicina (n = 21219) versus o grupo sem intervenção (0,28% e 1,12% respectivamente, n = 12529)⁷⁴ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1-). Contudo, a publicação deste estudo desencadeou uma disputa científica e legal⁷⁵⁻⁷⁷ e seus resultados devem ser interpretados com cautela. Um estudo retrospectivo bem menor (n = 1744) não encontrou diferenças na taxa de perda fetal entre pacientes tratadas com antibióticos profiláticos (Amoxicilina/Ácido Clavulânico ou Azitromicina, taxa de 1,3%) e mulheres não tratadas (1,2%)⁷⁸ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++). Há dados insuficientes de alta qualidade para avaliar o efeito do antibiótico profilático antes de um procedimento invasivo⁷⁹, e atualmente sua utilização não é endossada por órgãos científicos.

Ultrassonografia (pré e pós-procedimento) (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Antes de submeter uma mulher a um procedimento invasivo, os seguintes itens devem ser verificados através de ultrassonografia: número de fetos e viabilidade; localização placentária; quantidade de líquido amniótico; idade gestacional³. Normalmente o exame de ultrassonografia é também realizado após um procedimento invasivo para avaliar frequência cardíaca fetal, placenta (presença hematoma) e quantidade de líquido amniótico, o que pode ser feito imediatamente ou alguns dias após, dependendo de políticas locais²².

Assepsia (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Os princípios fundamentais de assepsia precisam ser observados durante a realização do procedimento invasivo para minimizar o risco de infecção materno-fetal. O uso de uma bandeja com luvas estéreis, compressas de gaze, pinças e agulhas é recomendado³. Antes da BVC transabdominal, amniocentese ou ASF, a pele do abdome precisa ser limpa com solução antisséptica (clorexidina ou iodo) e posteriormente coberta com um campo estéril. É comumente adotada a utilização de material esterilizado para cobrir a sonda. Alternativamente, a sonda pode ser desinfetada. O uso de gel esterilizado é fortemente recomendado para evitar contaminação bacteriana. Antes de BVC transcervical, um espéculo estéril é inserido e tanto o colo quanto as paredes vaginais são limpas com um antisséptico^{2,3,5}.

Anestesia local

Meta-análise recente da Cochrane reuniu os resultados de cinco ECRs que avaliaram diferentes métodos de analgesia para amniocentese; não houve ensaio randomizado para BVC. Concluiu-se que, em geral, há pouca dor durante a amniocentese e, portanto, não há evidência que apoie o uso de analgesia⁸⁰ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 1+). Antes da BVC transabdominal, o anestésico local pode ser utilizado para reduzir o desconforto da paciente, causado pelo maior tamanho da agulha^{2,3,80}. Em recente pesquisa britânica, 89% dos operadores relataram o uso de anestesia local na BVC⁴⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 3). Antes da ASF, o uso de anestésico pode ser considerado para reduzir o risco de movimentação materna durante o procedimento⁶². O uso de anestésico local antes da BVC transcervical não foi relatado.

Laudo (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Laudo detalhado sobre o procedimento deve ser disponibilizado ao médico ou profissional de saúde assistente. Os seguintes dados devem ser incluídos: indicação do diagnóstico invasivo²; achados ultrassonográficos antes do procedimento²; descrição do procedimento: instrumentos utilizados, local de punção, número de punções, quantidade de amostra, aparência do líquido amniótico (em caso de amniocentese); viabilidade do feto, aparência da placenta e quantidade de líquido amniótico após o procedimento²; Fator Rh e profilaxia²; exames laboratoriais solicitados (cariótipo convencional com banda G e/ou reação em cadeia da polimerase por fluorescência quantitativa (QF-PCR)/fluorescência por hibridização in-situ (FISH) com ou sem microarray)².

Instruções pós-procedimento (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Limitar a atividade física por 12-24 h é opcional, uma vez que não há evidência de benefício clínico. Não há um tratamento farmacológico amplamente recomendado, embora o uso de paracetamol (acetaminofeno) possa ser considerado logo após o procedimento, em caso de desconforto³. Administração de progesterona ou fármacos de ação tocolítica (isto é, terbutalina) após amniocentese ou BVC não demonstrou ter um benefício claro em termos de resultados clínicos relevantes⁷⁹. A consulta genética pós-teste é recomendada apenas em caso de resultado anormal¹⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4).

6. TIPOS DE TESTE GENÉTICO: O QUE PROCURAR

Os seguintes testes laboratoriais podem ser realizados com a amostra fetal obtida por procedimento invasivo: cariótipo completo, testes rápidos, diagnóstico molecular de desequilíbrios cromossômicos e diagnóstico de doença monogênica.

Cariótipo completo (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

O método convencional para a análise do cariótipo é a análise metafásica de cultura de células amnióticas ou de células mesenquimais placentárias obtidas respectivamente na amniocentese ou BVC. Os resultados estão disponíveis em 2 semanas. Em contraste, a análise metafásica de linfócitos fetais obtidos na cordocentese está disponível em 2-5 dias. Após a BVC, a análise direta de metáfases de citotrofoblasto é viável e pode ser obtida dentro de 5 dias¹⁷.

Teste rápido (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Testes rápidos, como QF-PCR (ou, mais raramente, FISH), podem ser realizados em vilosidades ou líquido amniótico para analisar cromossomos específicos (21, 13, 18, X, Y). Eles testes fornecem resultados em 1-2 dias e são comumente empregados após um rastreamento com resultado positivo ou em fetos com achados à ultrassonografia ou marcadores de aneuploidias mais comuns¹⁷. Em alguns cenários, o uso do QF-PCR substituiu o cariótipo completo. Entretanto, imprecisões nos resultados dos testes (falsos positivos ou falsos negativos) são ocasionalmente relatadas. Assim sendo, teste rápido anormal deve ser confirmado por cultura

metafásica ou ser associado com anomalias à ultrassonografia antes de decisões relativas à continuidade da gravidez⁸¹. O direito de interromper a gravidez após um resultado anormal de teste rápido varia de acordo com os diferentes sistemas de saúde e baseia-se em políticas locais.

Diagnóstico molecular de alterações cromossômicas

As técnicas de microarray (por exemplo, array hibridização genômica comparativa (aCGH)) foram introduzidos recentemente no campo de diagnóstico pré-natal. Estes métodos são capazes de detectar deleções cromossômicas submicroscópicas e duplicações (variações do número de cópias (CNV))¹⁷. Diferentes plataformas estão disponíveis, incluindo genoma-wide (resolução de 10-400-Kb), direcionados (isto é, 'cromossomo artificial bacteriano pré-natal (BACS)-em-pérolas' (BoBs)) e arrays mixtos. No primeiro grande estudo comparando microarrays com cariótipo para o diagnóstico pré-natal, verificou-se que o primeiro poderia detectar aberrações clinicamente relevantes em 6,0% dos fetos com cariótipo normal e defeitos estruturais e em 1,7% daqueles submetidos a testes invasivos por idade materna ou rastreamento positivo⁸². Vários estudos se seguiram e foi relatado um incremento diagnóstico de 7,0% e 5,0% com o uso de aCGH em fetos com cardiopatias congênicas ou TN aumentada, respectivamente^{83,84} (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Atualmente, recomenda-se o uso dessas técnicas em casos de anomalias estruturais fetais⁸² ou TN > 3,5 mm no primeiro trimestre^{83,84}. Entre estes grupos de gestantes, maiores taxas de CNV patológica, em comparação com a análise convencional, são obtidas com o uso do microarray. Entretanto, seu uso em população não selecionada é fortemente debatido, devido a difíceis interpretação e aconselhamento em casos de variantes de significado desconhecido (VOUS). A possibilidade de não se registrar a VOUS, para evitar o problema do aconselhamento de futuros pais em um contexto de achados incertos ou provavelmente irrelevantes, tem sido proposta⁶ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4).

Procedimento invasivo pré-natal no diagnóstico das doenças monogênicas pode ser utilizado para aquelas cujo defeito molecular é bem conhecido ou tenha sido previamente caracterizado (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4).

7. INFECÇÃO MATERNA

- O risco de transmissão vertical do HBV após amniocentese parece não estar aumentado em mulheres HBeAg-negativas.
- O risco de transmissão vertical do HIV parece não estar aumentado em mulheres que usam terapia antirretroviral altamente ativa (HAART).
- É prudente que em qualquer caso de infecção materna por HBV, HCV ou HIV, o teste não invasivo seja preferível; sempre que a amniocentese for realizada, todos os esforços devem ser feitos para evitar a placenta.

Em mulheres com infecção crônica, a inserção transplacentária da agulha durante a amniocentese deve ser evitada. Em geral, a taxa de transmissão fetal parece depender da carga viral materna⁸⁵.

Vírus da hepatite B (HBV)

Um estudo comparando as taxas de transmissão vertical em lactentes de mães HBsAg-positivas que foram submetidas ou não a amniocentese, descobriu que o grupo da amniocentese apresentou maior taxa de transmissão global (6,35% vs 2,53%). As taxas de transmissão não diferiram entre os grupos quando a carga viral era baixa, mas foram bastante elevadas no grupo da amniocentese (50%) para cargas virais $\geq 7 \log_{10}$ cópias/mL⁸⁵ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

A taxa de transmissão fetal parece não estar aumentada em mulheres HBsAg-positivas HBeAg-negativas em comparação com os controles (1,5-3%), enquanto que o risco é provavelmente aumentado em comparação aos controles nas pacientes HBeAg-positivas. O papel protetor da imunoprofilaxia ou da terapia antiviral antes do procedimento não foi explorado nestes casos^{86,87} (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Embora os dados sejam limitados, particularmente em relação ao risco potencialmente aumentado para mulheres HBeAg-positivas, a Sociedade de Obstetras e Ginecologistas do Canadá recomenda atualmente que todos os esforços sejam feitos para evitar a inserção da agulha através da placenta, ou muito próximo a ela⁷³.

Vírus da hepatite C (HCV)

Poucos dados estão disponíveis sobre a taxa de transmissão materno-fetal do HCV durante a amniocentese, embora tenham sido demonstradas taxas de infecção fetal similares em casos de mães HCV-positivas que não foram submetidas a amniocentese¹⁷.

Vírus da imunodeficiência humana (HIV)

A amniocentese foi um importante fator de risco para a transmissão vertical do HIV na era pré-medicamentos antirretrovirais. Estudo retrospectivo com 553 recém-nascidos de mulheres HIV-1-positivas relatou que a amniocentese foi um fator de risco independente para transmissão vertical, aumentando o risco em aproximadamente quatro vezes (odds ratio, 4,1 (IC 95%, 2,1-9,5))⁸⁸ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+).

A introdução da terapia antirretroviral combinada (C-ART) mudou radicalmente este cenário. Um estudo espanhol comparou os resultados de 366 mães HIV-positivas antes e após 1997, quando a terapia antirretroviral foi amplamente implementada: as taxas de transmissão vertical em mulheres que foram e que não foram submetidas a amniocentese foi de 30% (3/10) e 16,2% (40/247), respectivamente, antes de 1997, enquanto as mesmas taxas diminuíram para 0% (0/18) e 3,7% (3/81) após 1997⁸⁹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Taxas igualmente baixas foram relatadas após 1997, em um estudo italiano (3,3%)⁹⁰ e em um francês (0%)⁹¹. Além disso, um estudo multicêntrico francês destacou a superioridade da HAART (taxa de transmissão, 0%) em relação à Zidovudina isoladamente (taxa de transmissão, 6,1%) ou ausência de tratamento (taxa de transmissão, 25,0%) em mulheres HIV-positivas submetidas à amniocentese⁹² (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

Em gestantes infectadas pelo HIV, a transmissão fetal parece não estar aumentada naquelas submetidas a amniocentese em comparação com os controles não submetidos ao procedimento se a carga viral for baixa, se a paciente estiver sob terapia c-ART antes da concepção ou se a carga viral for alta, mas a c-ART foi iniciada pelo menos 2 semanas antes da amniocentese^{90,93}.

Segundo a Sociedade de Obstetras e Ginecologistas do Canadá, para as mulheres que não utilizam a c-ART, o risco de transmissão vertical é aumentada pela amniocentese. Quando possível, a c-ART deve ser iniciado e o procedimento adiado até que a carga viral seja indetectável⁷³. Semelhante ao HBV e HCV, todos os esforços devem ser feitos em mães HIV-positivas para evitar a inserção da agulha através da placenta, ou muito próximo a ela⁷³.

O risco de transmissão vertical do HBV, HCV ou HIV após BVC ou cordocentese ainda não foi completamente investigado⁷³.

8. GESTAÇÃO MÚLTIPLA

- As taxas de perda fetal após BVC e amniocentese parecem ser semelhantes em gestações gemelares (GRAU DE RECOMENDAÇÃO: C).

Na gestação múltipla é preferível que os procedimentos sejam conduzidos por especialista apto a realizar interrupção seletiva¹⁷. Os dados sobre o risco de abortamento relacionado aos procedimentos provêm de estudos de coorte retrospectivos, uma vez que não há ECRs disponíveis.

Amniocentese em gemelares

Vários estudos retrospectivos avaliaram a taxa de abortamento após amniocentese em gemelares. Entre os mais recentes, um estudo caso-controle canadense relatou uma taxa de perda de 3,0% após amniocentese, comparada a 0,8% em controles⁹⁴; uma série espanhola relatou perda de 2,7% vs 2,6%⁹⁵ e um estudo americano reportou taxa de perda de 3,2% vs 1,4%⁹⁶ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Uma meta-análise sintetizando os dados relatou uma taxa de perda gestacional global de 3,07%, e uma taxa de perda de 2,54% antes de 24 semanas; para estudos caso-controle, as taxas de perda para gestações gemelares submetidas a amniocentese e controle foram de 2,59% vs 1,53% (RR, 1,81 (IC 95%, 1,02-3,19))⁹⁷. Nenhuma diferença foi encontrada entre a inserção uterina única versus dupla⁹⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++).

BVC em gemelares

Os dados sobre BVC são ainda mais limitados em gemelares. A meta-análise referida anteriormente⁹⁷ relatou uma taxa de perda gestacional global de 3,84% após BVC em gêmeos. Não foram encontradas diferenças significativas entre as vias transabdominal e transcervical, utilização de uma ou duas agulhas e inserção uterina única versus dupla⁹⁷ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2 ++). Não houve diferença significativa entre as taxas de perda relatadas na BVC e amniocentese em estudos retrospectivos comparando os dois métodos. Um estudo incluindo dados dos anos 1984-1990 relatou taxa de perda de 3,2% após BVC vs 2,9% após a amniocentese⁹⁸. Dados semelhantes foram relatados em estudo mais recente, com taxas de perda de 3,85% e 4,0% após BVC e amniocentese, respectivamente⁹⁹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). Não há dados suficientes para comparar a taxa de perda da BVC com o risco a priori em gemelares.

Trigêmeos

Dados sobre o risco de abortamento relativo ao procedimento invasivo entre gestações triplas são insuficientes.

Corionicidade e mapeamento

Antes de realizar um procedimento invasivo em gestações múltiplas, é extremamente importante que a corionicidade e a placentação sejam precisamente mapeadas e os gêmeos identificados (com diagramas), e que seja observado se o sexo é discordante^{3,100,101}.

Técnica de amniocentese em gemelares

A técnica de amniocentese em gêmeos varia de acordo com a corionicidade^{98,101}.

Amniocentese em gêmeos dicoriônicos

Em uma gestação dicoriônica, é recomendada amostragem de ambas as cavidades. Com a técnica de duas punções (uma por cavidade) há um pequeno risco (1,8%) de amostragem da mesma cavidade duas vezes¹⁰¹. Para evitar este problema, um corante (índigo carmim) pode ser instilado na primeira cavidade em casos duvidosos, ou em gestações triplas ou com maior número de fetos. O uso de azul de metileno como corante foi abandonado devido a um aumento do risco de anomalias fetais (atresia jejunal)^{102,103} (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+). A técnica de punção única com a passagem através da membrana entre as cavidades é uma alternativa. Neste caso, os primeiros 1-2 ml de líquido amniótico colhidos após a passagem pela membrana devem ser descartados para evitar a contaminação pelo primeiro gemelar¹⁰¹. O risco de perda

fetal não se mostrou aumentado com a punção dupla em comparação com a técnica da punção única⁹⁹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 2+).

Amniocentese em gêmeos monocoriônicos diamnióticos

Na gestação gemelar monocoriônica diamniótica, a amostragem de uma única cavidade é suficiente se a corionicidade tiver sido claramente determinada à ultrassonografia antes de 14 semanas e o crescimento e anatomia fetais forem concordantes. Se não for o caso, amostragem de ambas as cavidades deve ser considerada¹⁰¹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4). Uma abordagem de duas amostras deve também ser considerada após fertilização in vitro (FIV) ou em caso de anomalia/crescimento discordantes (pequeno risco de cariótipos discordantes). Se a amostragem das duas cavidades for clinicamente indicada, a técnica de duas punções é recomendada para evitar a monoamnionicidade iatrogênica¹⁰¹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4).

Técnica de BVC em gemelares

A técnica de BVC em gestações múltiplas também depende da corionicidade⁹⁷.

BVC em gêmeos dicoriônicos

Em gêmeos dicoriônicos submetidos a BVC transabdominal, tanto podem ser realizadas duas punções separadas, uma em cada área trofoblástica, quanto a técnica de punção única com amostragem das duas placentas em sequência (conjunto com porção externa única de 18-19 G e duas agulhas de 20-G, uma para cada placenta). Em BVC transcervical, duas biópsias, uma em cada sítio placentário, são o bastante¹⁰¹ (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4). Erro de amostragem ou imprecisão ocorrem em 3-4% dos casos¹⁰¹. Contaminação cruzada do tecido coriônico com coexistência de células de diferentes placentas na mesma amostra é descrita em 1% de BVC em gêmeos¹⁰⁴. Para reduzir o risco de resultados não confiáveis ou imprecisos, é recomendada a amostragem da placenta próximo à inserção do cordão umbilical, e evitando a área da membrana divisória. Alternativamente, uma combinação das vias transabdominal e transcervical podem ser considerada (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4).

BVC em gêmeos monoriônicos (NÍVEL DE EVIDÊNCIA: 4)

Em gêmeos monocoriônicos, uma abordagem por amostra única próximo à inserção amniótica é suficiente. Alteração para amniocentese por duas amostras deve ser considerada após fertilização in vitro ou em caso de anomalia/crescimento discordantes (pequeno risco de cariótipos discordantes)¹⁰¹.

9. ANTICOAGULAÇÃO PROFILÁTICA ANTES DE PROCEDIMENTOS INVASIVOS

Não existem dados disponíveis sobre a interrupção da anti-coagulação profilática antes do procedimento pré-natal invasivo. As recomendações podem derivar de estudos sobre outros tipos de procedimentos invasivos percutâneos, incluindo biópsia hepática. Quanto à dosagem profilática de aspirina e heparina de baixo peso molecular, interrupção antes do procedimento parece não ser clinicamente justificável. Entretanto, suspender uma única dose de heparina parece aconselhável^{105,106}.

10. AUDITORIA

Cada examinador deve realizar seu próprio controle de qualidade através da coleta dos seguintes parâmetros: número de procedimentos realizados por ano; número de amostras com material insuficiente; número de amostras de líquido amniótico contendo sangue; número de procedimentos com mais de uma punção, e número de punções; resultados perinatais (incluindo número de abortamentos e intervalo de tempo após o procedimento, perda líquida, parto pré-termo, rotura de membranas); outras complicações obstétricas²².

11. TREINAMENTO

O treinamento para procedimentos invasivos deve começar em modelo/simulador, para que se pratique a manutenção da agulha dentro da janela acústica, de modo que a mesma permaneça sempre visível para garantir a segurança. O treinamento prático deve começar com amniocentese "simples" (isto é, placenta posterior e com quantidade adequada de líquido amniótico) ou BVC "simples" (isto é, placenta de fácil acesso), ou em mulheres que irão realizar a interrupção da gravidez, nos locais onde é permitida. O número mínimo necessário de procedimentos por operador, a fim de otimizar sua competência em fazer com segurança, é amplamente variável na literatura (desde 45 até 300). Entretanto, de acordo com a maioria, não se esperam mais melhorias² após 100 procedimentos realizados de forma independente.

AUTORES DAS DIRETRIZES

Estas diretrizes foram desenvolvidas em nome da Sociedade Internacional de Ultrassonografia em Obstetrícia e Ginecologia (ISUOG) por:

T. Ghi, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Parma, Parma, Italy;

A. Sotiriadis, Department of Obstetrics and Gynecology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece;

P. Calda, Department of Obstetrics and Gynecology, Charles University in Prague, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic;

F. Da Silva Costa, Monash Ultrasound for Women and Perinatal Services, Monash Medical Centre, Melbourne, Victoria, Australia;

N. Raine-Fenning, Division of Child Health, Obstetrics and Gynaecology, School of Medicine, University of Nottingham, Nottingham, UK – Nurture Fertility, The Fertility Partnership;

Z. Alfirevic, Department of Women's and Children's Health, University of Liverpool, Liverpool, UK;

G. McGillivray, Victorian Clinical Genetics Services, Mercy Hospital for Women, Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australia.

A revisão aberta foi feita por:

R. Fareeduddin, F. Prefumo, A. Borrell, A. Khalil, M. Bebbington and M. Vicea Calomfirescu.

Estas diretrizes foram revisadas por pares do Comitê de Padronização Clínica.

Os revisores externos das diretrizes foram:

M. D. Kilby, Centre for Women's and Children's Health, University of Birmingham and Fetal Medicine Centre, Birmingham Women's Foundation Trust, Birmingham, UK;

S. Suresh, Mediscan, Mylapore, Chennai, India.

A versão final é de responsabilidade do Comitê de Padronização Clínica da ISUOG.

O processo de revisão das diretrizes começará em 4 anos, a menos que evidências sugiram a necessidade de uma revisão anterior.

CITAÇÃO

Estas diretrizes devem ser citadas como: 'Ghi T, Sotiriadis A, Calda P, Da Silva Costa F, Raine-Fenning N, Alfirevic Z, McGillivray G, on behalf of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis in obstetrics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 48: 256–268.'

Referências

1. Sarto GE. Prenatal diagnosis of genetic disorders by amniocentesis. *Wis Med J* 1970; 69: 255–260.
2. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling. Green-top Guideline No. 8, June 2010.
3. Wilson RD, Davies G, Gagnon A, Desilets V, Reid GJ, Summers A, Wyatt P, Allen VM, Langlois S; Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Amended Canadian guideline for prenatal diagnosis (2005) change to 2005–techniques for prenatal diagnosis. *J Obstet Gynaecol Can* 2005; 27: 1048–1062.
4. Tabor A, Alfirevic Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn Ther* 2010; 27: 1–7.
5. Cruz-Lemini M, Parra-Saavedra M, Borobio V, Bennasar M, Gonce A, Mart ´ ´inez JM, Borrell A. How to perform an amniocentesis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 44: 727–731.
6. Athanasiadis AP, Pantazis K, Goulis DG, Chatzigeorgiou K, Vaitis V, Assimakopoulos E, Tzevelekis F, Tsalikis T, Bontis JN. Comparison between 20G and 22G needle for second trimester amniocentesis in terms of technical aspects and short-term complications. *Prenat Diagn* 2009; 29: 761–765.
7. Uludag S, Aydin Y, Ibrahimova F, Madazli R, Sen C. Comparison of complications in second trimester amniocentesis performed with 20G, 21G and 22G needles. *J Perinat Med* 2010; 38: 597–600.
8. Giorlandino C, Mobili L, Bilancioni E, D’Alessio P, Carcioppolo O, Gentili P, Vizzone A. Transplacental amniocentesis: is it really a higher-risk procedure? *Prenat Diagn* 1994; 14: 803–806.
9. Bombard AT, Powers JF, Carter S, Schwartz A, Nitowsky HM. Procedure-related fetal losses in transplacental versus nontransplacental genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 868–872.
10. Marthin T, Liedgren S, Hammar M. Transplacental needle passage and other risk-factors associated with second trimester amniocentesis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76: 728–732.
11. Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe? *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 607–615.
12. Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Nørgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1: 1287–1293.
13. Calda P, Brestak M. Amniocentesis vs standard syringe technique for amniocentesis: experience with 1219 cases. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201: 593.
14. Nuss S, Brebaum D, Grond-Ginsbach C. Maternal cell contamination in amniotic fluid samples as a consequence of the sampling technique. *Hum Genet* 1994; 93: 121–124.
15. Hockstein S, Chen PX, Thangavelu M, Pergament E. Factors associated with maternal cell contamination in amniocentesis samples as evaluated by fluorescent in situ hybridization. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 551–556.
16. Welch RA, Salem-Elgharib S, Wiktor AE, Van Dyke DL, Blessed WB. Operator experience and sample quality in genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 189–191.
17. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 1459–1467.

18. Johnson JM, Wilson RD, Winsor EJ, Singer J, Dansereau J, Kalousek DK. The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis versus midtrimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1996; 11: 85–93.
19. Wilson RD, Johnson J, Windrim R, Dansereau J, Singer J, Winsor EJ, Kalousek D. The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis and midtrimester amniocentesis. II. Evaluation of procedure details and neonatal congenital anomalies. *Fetal Diagn Ther* 1997; 12: 97–101.
20. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. *Lancet* 1998; 351: 242–247.
21. Farrell SA, Summers AM, Dallaire L, Singer J, Johnson JA, Wilson RD. Club foot, an adverse outcome of early amniocentesis: disruption or deformation? CEMAT. Canadian Early and Mid-Trimester Amniocentesis Trial. *J Med Genet* 1999; 36: 843–846.
22. Kahler C, Gembruch U, Heling KS, Henrich W, Schramm T; DEGUM. [DEGUM " guidelines for amniocentesis and chorionic villus sampling]. *Ultraschall Med* 2013; 34: 435–440.
23. O'Donoghue K, Giorgi L, Pontello V, Pasquini L, Kumar S. Amniocentesis in the third trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 2007; 27: 1000–1004.
24. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 16–26.
25. Wulff CB, Gerds TA, Rode L, Ekelund CK, Petersen OB, Tabor A; Danish Fetal Medicine Study Group. The risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first trimester risk screening for Down syndrome – a national cohort of 147 987 singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 38–44.
26. Philip J, Silver RK, Wilson RD, Thom EA, Zachary JM, Mohide P, Mahoney MJ, Simpson JL, Platt LD, Pergament E, Hershey D, Filkins K, Johnson A, Shulman LP, Bang J, MacGregor S, Smith JR, Shaw D, Wapner RJ, Jackson LG. Late first-trimester invasive prenatal diagnosis: results of an international randomized trial; NICHD EATA Trial Group. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 1164–1173.
27. Borgida AF, Mills AA, Feldman DM, Rodis JF, Egan JF. Outcome of pregnancies complicated by ruptured membranes after genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 937–939.
28. Cross HE, Maumenee AE. Ocular trauma during amniocentesis. *Arch Ophthalmol* 1973; 90: 303–304.
29. Epley SL, Hanson JW, Cruikshank DP. Fetal injury with midtrimester diagnostic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1979; 53: 77–80.
30. Cambiaghi S, Restano L, Cavalli R, Gelmetti C. Skin dimpling as a consequence of amniocentesis. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39: 888–890.
31. Sepulveda W, Quiroz V, Fernandez R. [Trauma of the fetal vessels during amniocentesis]. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1984; 49: 99–103.
32. Eller KM, Kuller JA. Porencephaly secondary to fetal trauma during amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 865–867.
33. Squier M, Chamberlain P, Zaiwalla Z, Anslow P, Oxbury J, Gould S, McShane MA. Five cases of brain injury following amniocentesis in mid-term pregnancy. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42: 554–560.

34. Okyay RE, Gode F, Saatli B, Guclu S. Late-onset maternal mortality after amniocentesis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158: 367–368.
35. Bodner K, Wierrani F, Bodner-Adler B. Maternal sepsis due to *Clostridium perfringens* after 2nd-trimester genetic amniocentesis. *J Obstet Gynaecol* 2011; 31: 339–340.
36. Pinette MG. Maternal death after second-trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2005; 106: 409.
37. Elchalal U, Shachar IB, Peleg D, Schenker JG. Maternal mortality following diagnostic 2nd-trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 2004; 19: 195–198.
38. Plachouras N, Sotiriadis A, Dalkalitis N, Kontostolis E, Xiropotamos N, Paraskevaidis E. Fulminant sepsis after invasive prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 1244–1247.
39. Hess LW, Anderson RL, Golbus MS. Significance of opaque discolored amniotic fluid at second-trimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1986; 67: 44–46.
40. Tabor A, Vestergaard CH, Lidegaard Ø. Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 19–24.
41. Towner D, Currier RJ, Lorey FW, Cunningham GC, Greve LC. Miscarriage risk from amniocentesis performed for abnormal maternal serum screening. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 608.e1–5.
42. Harper LM, Cahill AG, Smith K, Macones GA, Odibo AO. Effect of maternal obesity on the risk of fetal loss after amniocentesis and chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2012; 119: 745–751.
43. Department of Obstetrics and Gynecology, Tietung Hospital, Anshan, China. Fetal sex prediction by sex chromatin of chorionic cells during early pregnancy. *Chin Med J (Engl)* 1975; 1: 117–126.
44. Niazi M, Coleman DV, Loeffler FE. Trophoblast sampling in early pregnancy. Culture of rapidly dividing cells from immature placental villi. *Br J Obstet Gynaecol* 1981; 88: 1081–1085.
45. Young C, von Dadelszen P, Alfirevic Z. Instruments for chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 1: CD000114.
46. Jackson LG, Zachary JM, Fowler SE, Desnick RJ, Golbus MS, Ledbetter DH, Mahoney MJ, Pergament E, Simpson JL, Black S, et al. A randomized comparison of transcervical and transabdominal chorionic-villus sampling. The U.S. National Institute of Child Health and Human Development Chorionic-Villus Sampling and Amniocentesis Study Group. *N Engl J Med* 1992; 327: 594–598.
47. Carlin AJ, Alfirevic Z. Techniques for chorionic villus sampling and amniocentesis: a survey of practice in specialist UK centres. *Prenat Diagn* 2008; 28: 914–919.
48. Battagliarin G, Lanna M, Coviello D, Tassis B, Quarenghi A, Nicolini U. A randomized study to assess two different techniques of aspiration while performing transabdominal chorionic villus sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 33: 169–172.
49. von Dadelszen P, Sermer M, Hillier J, Allen LC, Fernandes BJ, Johnson JA, Shime J, Winsor EJ, Ryan G. A randomised controlled trial of biopsy forceps and cannula aspiration for transcervical chorionic villus sampling. *BJOG* 2005; 112: 559–566.
50. Mastroiacovo P, Botto LD, Cavalcanti DP, Lalatta F, Selicorni A, Tozzi AE, Baronciani D, Cigolotti AC, Giordano S, Petroni F, et al. Limb anomalies following chorionic villus sampling: a registry based case–control study. *Am J Med Genet* 1992; 44: 856–864.

51. Botto LD, Olney RS, Mastroiacovo P, Khoury MJ, Moore CA, Alo CJ, Costa P, Edmonds LD, Flood TJ, Harris JA, Howe HL, Olsen CL, Panny SR, Shaw GM. Chorionic villus sampling and transverse digital deficiencies: evidence for anatomic and gestational-age specificity of the digital deficiencies in two studies. *Am J Med Genet* 1996; 62: 173–178.
52. Brambati B, Lanzani A, Tului L. Transabdominal and transcervical chorionic villus sampling: efficiency and risk evaluation of 2,411 cases. *Am J Med Genet* 1990; 35: 160–164.
53. Papp C, Beke A, Mezei G, Toth-Pál E, Papp Z. Chorionic villus sampling: a 15-year experience. *Fetal Diagn Ther* 2002; 17: 218–227.
54. Odibo AO, Dicke JM, Gray DL, Oberle B, Stamilio DM, Macones GA, Crane JP. Evaluating the rate and risk factors for fetal loss after chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2008; 112: 813–819.
55. Donner C, Simon P, Karioun A, Delneste D, Abramowicz M, Cochaux P, Rodesch F. Experience with 1251 transcervical chorionic villus samplings performed in the first trimester by a single team of operators. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 60: 45–51.
56. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, Lundsteen C, Zachary J, Fowler S, Gruning K. Randomized comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992; 340: 1237–1244.
57. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 3: CD003252.
58. Basaran A, Basaran M, Topatan B. Chorionic villus sampling and the risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 283: 1175–1181.
59. Sotiriadis A, Eleftheriades M, Chatzinikolaou F, Chatzistamatiou K, Assimakopoulos E, Chasiakos D. Fetal growth impairment after first-trimester chorionic villus sampling: a case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015 29: 1–5.
60. Akolekar R1, Bower S, Flack N, Bilardo CM, Nicolaides KH. Prediction of miscarriage and stillbirth at 11–13 weeks and the contribution of chorionic villus sampling. *Prenat Diagn* 2011; 31: 38–45.
61. Orlandi F, Damiani G, Jakil C, Rossi C, Maggio A, Scola B, Cittadini E, Quartararo P. Clinical results and fetal biochemical data in 140 early second trimester diagnostic cordocenteses. *Acta Eur Fertil* 1987; 18: 329–333.
62. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), Berry SM, Stone J, Norton ME, Johnson D, Berghella V. Fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 2013 Sep; 209: 170–180.
63. Nicolaidis P, Nicolini U, Fisk NM, Tannirandorn Y, Nasrat H, Rodeck CH. Fetal blood sampling from the intrahepatic vein for rapid karyotyping in the second and third trimesters. *Br J Radiol* 1991; 64: 505–509.
64. Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikantikul C, Sirirchotiyakul S, Piyamongkol W, Chanprapaph P. Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 719–723.
65. Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, Neales K, Allan L, Knott P. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98: 892–897.
66. Antsaklis A, Daskalakis G, Papantoniou N, Michalas S. Fetal blood sampling--indication-related losses. *Prenat Diagn* 1998; 18: 934–940.

67. Liao C, Wei J, Li Q, Li L, Li J, Li D. Efficacy and safety of cordocentesis for prenatal diagnosis. *Int Gynecol Obstet* 2006; 93: 13–17.
68. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The use of Anti-D Immunoglobulin for Rhesus D Prophylaxis. Green-top Guideline No. 22. London: RCOG Press, March 2011. <http://obgyn2015.org/wp-content/uploads/2015/11/Rh-negative-and-AntiD.pdf>.
69. Tabor A, Jerne D, Bock JE. Incidence of rhesus immunisation after genetic amniocentesis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 293: 533–536.
70. Murray JC, Karp LE, Williamson RA, Cheng EY, Luthy DA. Rh isoimmunization related to amniocentesis. *Am J Med Genet* 1983; 16: 527–534.
71. Henrion R, Papa F, Rouvillois JL, Henrion-Geant E. [Early amniocentesis, 1061 ‘ punctures and 1000 pregnancies]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1979; 8: 603–611.
72. Brandenburg H, Jahoda MG, Pijpers L, Wladimiroff JW. Rhesus sensitization after midtrimester genetic amniocentesis. *Am J Med Genet* 1989; 32: 225–226.
73. Gagnon A, Davies G, Wilson RD; Genetics Committee, Wilson RD, Audibert F, Brock JA, Campagnolo C, Carroll J, Chitaya DT, Gagnon A, Johnson JA, MacDonald W, Murphy-Kaulbeck L, Okun N, Pastuck M; Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada. Prenatal invasive procedures in women with hepatitis B, hepatitis C, and/or human immunodeficiency virus infections. *J Obstet Gynaecol Can* 2014; 36: 648–655.
74. Giorlandino C, Cignini P, Cini M, Brizzi C, Carcioppolo O, Milite V, Coco C, Gentili P, Mangiafico L, Mesoraca A, Bizzoco D, Gabrielli I, Mobili L. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis (APGA): a single-centre open randomised controlled trial. *Prenat Diagn* 2009; 29: 606–612.
75. Alfirevic Z, Pilu G. Antibiotic prophylaxis for amniocentesis. *Prenat Diagn* 2009; 29: 1094.
76. Ferrazzi E. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis. *Prenat Diagn* 2010; 30: 188.
77. Hobbins JC, Pilu G, Abuhumad A, Alfirevic Z, Bahado-Singh RO, Benacerraf BR, Berkowitz RL, Cetin I, Copel JA, Eik-Nes S, Frusca T, Galan HL, Guaschino S, Mahoney MJ, Marsal K, Malinger G, Marconi AM, Martinelli P, Moore TR, Papageorghiou AT, Platt LD, Rizzo N, Tabor A, Thilaganathan B, Timor-Tritsch IE, Todros T, Yagel S. Antibiotic prophylaxis before amniocentesis. *Prenat Diagn* 2011; 31: 1213–1214.
78. Gramellini D, Fieni S, Casilla G, Raboni S, Nardelli GB. Mid-trimester amniocentesis and antibiotic prophylaxis. *Prenat Diagn* 2007; 27: 956–959.
79. Mujzinovic F, Alfirevic Z. Technique modifications for reducing the risks from amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 8: CD008678.
80. Mujzinovic F, Alfirevic Z. Analgesia for amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 11: CD008580.
81. Technical and clinical assessment of fluorescence in situ hybridization: an ACMG/ASHG position statement. Technical considerations. American College of Medical Genetics. *Genet Med* 2000; 2: 356–361.
82. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet al, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2175–2184.

83. Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Cobben JM, Odibo AO, Borrell A, Haak MC. Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 27–35.
84. Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, Borrell A. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 46: 650–658.
85. Yi W, Pan CQ, Hao J, Hu Y, Liu M, Li L, Liang D. Risk of vertical transmission of hepatitis B after amniocentesis in HBs antigen-positive mothers. *J Hepatol* 2014; 60: 523–529.
86. Towers CV, Asra T, Rumney P. The presence of hepatitis B surface antigen and deoxyribonucleic acid in amniotic fluid and cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 184: 1514–1518.
87. Grosheide PM, Quartero HW, Schalm SW, Heijtkink RA, Christiaens GC. Early invasive prenatal diagnosis in HBsAg-positive women. *Prenat Diagn* 1994; 14: 553–558.
88. Tess BH, Rodrigues LC, Newell ML, Dunn DT, Lago TD. Breastfeeding, genetic, obstetric and other risk factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 in Sao Paulo State, Brazil. Sao Paulo Collaborative Study for Vertical Transmission of HIV-1. *AIDS* 1998; 12: 513–520.
89. Maiques V, Garcí́a-Tejedor A, Perales A, Cordoba J, Esteban RJ. HIV detection in amniotic fluid samples. Amniocentesis can be performed in HIV pregnant women? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 108: 137–141.
90. Somigliana E, Bucciari AM, Tibaldi C, Alberico S, Ravizza M, Savasi V, Marini S, Matrone R, Pardi G; Italian Collaborative Study on HIV Infection in Pregnancy. Early invasive diagnostic techniques in pregnant women who are infected with the HIV: a multicenter case series. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 437–442.
91. Ekoukou D, Khuong-Josses MA, Ghibaud N, Mechali D, Rotten D. Amniocentesis in pregnant HIV-infected patients. Absence of mother-to-child viral transmission in a series of selected patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 140: 212–217.
92. Mandelbrot L, Jasseron C, Ekoukou D, Batallan A, Bongain A, Pannier E, Blanche S, Tubiana R, Rouzioux C, Warszawski J; ANRS French Perinatal Cohort (EPF). Amniocentesis and mother-to-child human immunodeficiency virus transmission in the Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les Hepatites Virales French Perinatal Cohort. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 160.e1–9.
93. Shapiro DE, Sperling RS, Mandelbrot L, Britto P, Cunningham BE. Risk factors for perinatal human immunodeficiency virus transmission in patients receiving zidovudine prophylaxis. Pediatric AIDS Clinical Trials Group protocol 076 Study Group. *Obstet Gynecol* 1999; 94: 897–908.
94. Millaire M, Bujold E, Morency AM, Gauthier RJ. Mid-trimester genetic amniocentesis in twin pregnancy and the risk of fetal loss. *J Obstet Gynaecol Can* 2006; 28: 512–518.
95. Lenis-Cordoba N, Sanchez M ´ A, Bello-Mu ´ noz JC, Sagal ´ a-Martinez J, Campos N, ´ Carreras-Moratonas E, Cabero-Roura L. Amniocentesis and the risk of second trimester fetal loss in twin pregnancies: results from a prospective observational study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013; 26: 1537–1541.
96. Cahill AG, Macones GA, Stamilio DM, Dicke JM, Crane JP, Odibo AO. Pregnancy loss rate after mid-trimester amniocentesis in twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 257.e1–6.

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

ANEXO 1 Graus de recomendações e níveis de evidência utilizados nas diretrizes

Classificação dos níveis de evidência

- 1 ++: Metanálises de alta qualidade, revisões sistemáticas de ensaios clínicos randomizados controlados ou ensaios clínicos randomizados controlados com muito baixo risco de viés;
- 1+: Metanálises bem conduzidas, revisões sistemáticas de ensaios clínicos randomizados controlados ou ensaios controlados randomizados com baixo risco de viés;
- 1-: Metanálises, revisões sistemáticas de ensaios clínicos randomizados controlados ou ensaios clínicos controlados com alto risco de viés;
- 2 ++: Revisões sistemáticas de alta qualidade de estudos de caso-controle ou coorte, ou estudos caso-controle ou de coorte de alta qualidade e com risco muito baixo de confusão, viés e alta probabilidade de relação causal;
- 2+: Estudos de caso-controle ou coorte bem conduzidos com baixo risco de confusão, viés e probabilidade moderada de relação causal;

2-: Estudos de caso-controle ou coorte com alto risco de confusão, viés e risco significativo de que a relação não é causal;

3: Estudos não-analítico estudos, por exemplo, relatos de casos, séries de casos;

4: A opinião de especialistas.

Graus de recomendações

A: Pelo menos uma meta-análise, revisão sistemática ou estudo randomizado controlado classificado como 1 ++ e aplicável diretamente para a população-alvo; ou revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados controlados ou um corpo de evidências que consiste principalmente de estudos classificados como 1+ aplicável diretamente para a população-alvo e consistência global dos resultados;

B: Corpo de evidências incluindo estudos classificados como 2 ++ aplicável diretamente para a população-alvo e consistência global dos resultados; ou evidências extrapoladas de estudos classificados como 1 ++ ou 1+

C: Corpo de evidências incluindo estudos classificados como 2+ aplicável diretamente para a população-alvo e consistência global dos resultados; ou evidência extrapoladas a partir de estudos de avaliação como 2 ++

D: Evidências de nível 3 ou 4; ou evidência extrapolada a partir de estudos classificados como 2+
Boa prática clínica: A prática recomendada com base na experiência clínica do grupo de desenvolvimento de diretrizes.