

CVS og amniocentese Forslag til guideline 14.1.2009

Disse guidelines er udarbejdet, på basis af tidligere guidelines fra Sandbjerg 2001, af Hanne Jensen, Anette Kristiansen, Hanne Mohapeloa, Hedvig Poulsen, Peter Skovbo, Lene Sperling, Karin Sundberg, Ann Tabor og Helle Zingenberg.

Definition

CVS (=chorionic villus sampling) benyttes rutinemæssigt til invasiv prænatal diagnostik fra ca. 10 uger og op til ca. 16 uger. Ved CVS udhentes placentavæv, hvorfra celler og DNA som repræsenterer fosterets genom kan ekstraheres. Chorionvævet kan anvendes til karyotypering samt DNA baseret sygdomsdiagnostik. Fordelen ved prænatal diagnostik ved CVS er primært det tidlige tidspunkt i graviditeten, hvor prøven kan tages. Dette gør den velegnet til opfølgning på graviditeter, hvor der er øget risiko ved 1. trimester screeningen for Down syndrom. En anden fordel er, at tidlig afbrydelse af svangerskabet er muligt, hvis fosteret findes sygt.

Amniocentese (AC) benyttes til invasiv prænatal diagnostik efter ca 16 uger. Ved metoden udhentes amnionvæske, hvorfra amnionceller dyrkes. Cellerne i amnionvæsken stammer fortrinsvis fra fosterets gastrointestinalkanal, luftvejene og urogenitalsystem, amnionhinde og navlesnor. Der er relativt få celler i forhold til chorion væv, hvorfor dyrkningstiden til karyotype kan være et par dage længere.

Ved AC kan der også undersøges for indholdet af AFP (alfa-føto-protein) med henblik på detektion af neuralrørs- og bugvægsdefekter. Dette er ikke muligt ved CVS, men ellers er diagnosticeringsmulighederne de samme ved de to metoder.

Organisation og udtagning

I Danmark ydes genetisk rådgivning på 5 klinisk genetiske afdelinger, hvor også både chorionvæv og amnionceller analyseres.

Prøvetagning foretages på 18 gynækologisk obstetriske afdelinger, som alle foretager AC, medens 17 afdelinger foretager CVS.

I 2006 blev der foretaget 1208 AC og 2307 CVS, sv.t. at 5,4% af gravide kvinder fik foretaget en invasiv undersøgelse .

Svartider:

- CVS og AC med PCR / FISH 1-3 døgn
- CVS dyrkning 10-12 dage
- AC 2-3 uger

Valg af prænatal diagnostisk metode

Fordelen ved CVS er den tidlige udtagning og svar, og den deraf følgende mulighed for at tilbyde evacuatio uteri . Skal der udføres en invasiv diagnostisk undersøgelse efter 15 uger, tilbydes sædvanligvis AC. AC er teknisk nemmere at udføre.

Ulemperne ved CVS er, at prøven skal tages om eller suppleres med AC i ca 1% af tilfældene (for lille prøvemængde, manglende vækst, tvivlsom karyotype herunder mosaicisme).

Sundhedsstyrelsens retningslinier for prænatal diagnostik fra 2004

Sundhedsstyrelsen anbefaler, at CVS og AC kun tilbydes kvinder efter risikovurdering for Downs syndrom ved hjælp af doubletest og nakkefoldsskanning.

Indikationer for CVS eller AC:

- Kvinder med en risiko $\geq 1:300$ for Downs syndrom mellem 11 og 14 uger, beregnet på basis af maternel alder, doubletest og nakkefoldsskanning
- Hvis der er født et barn med kromosomsygdom eller en af forældrene er bærer
- Hvis der er født et barn med en monogenetisk sygdom eller en af forældrene er bærer
- Hvis der findes en monogenetisk sygdom i den nære familie

Sundhedsstyrelsen anbefaler, at personer, der udfører invasive undersøgelser, foretager mindst 75 CVS om året og mindst 25 AC om året.

Antallet af invasive indgreb er faldet betragteligt over de sidste 8 år, hvilket taler for centralisering af procedureerne.

CVS metode

Alle udtagings-centre benytter transabdominal CVS med dobbeltnål-teknikken (Smidt-Jensen og Hahnemann 1984). Indgrebet udføres under direkte ultralydvejledning. Nålen guides ved hjælp af et punkturstyr, i modsætning til visse steder i udlandet, hvor frihåndsteknik med enkeltnål anvendes. Fordelen ved nålestyrsmetoden er den mere præcise ultralydvejledning og en mulighed for et præcist indstik, som alt andet lige er mindre ubehageligt for kvinden. Fordelen ved dobbeltnål teknikken er at når først ledenålen - den yderste nål - er placeret i placentavævet kan aspirationen foretages så mange gange det er nødvendigt, uden at kvinden føler yderligere ubehag. Nåleens bevægelse foretages uhindret gennem ledenålen - i modsætning til en-nåls metoden, hvor bevægelser med nålen straks påvirker det omkringliggende væv med smertereaktioner som konsekvens.

Transabdominal CVS kan foretages gennem hele graviditeten og kan også i 2. og 3. trimester anvendes som alternativ til AC f.eks. ved anhydramnios. Der er enighed om ikke at foretage CVS ikke tidligere end ca. 10 fulde uger, da der i udenlandske undersøgelser har været rejst mistanke om fosterskader forårsaget af meget tidlig prøvetagning. Som ledenål kan benyttes en nål med en ydre diameter på 1,2 mm. Ledenålen har stilet. Det er vigtigt, at nålen er meget skarp for at reducere smertereaktionen og overflødigøre lokalanæstesi. Almindeligvis benyttes nåle med et slib på 19 grader. I ledenåle passer aspirations-nåle med en ydre diameter på 0,8 – 0,9 mm. Der kan med fordel benyttes en specialfremstillet nål, som er skåret lige over, men slebet skarp, med den "højeste" del at skæret svarende til nåleens yderside.

Chorionvævet aspireres op i nålen, som kan gennemskyldes med Heparin inden. Heparin anvendes for at forhindre, at blodet størkner i nålen ved blodige aspirater. Der anvendes 10-20 mg villi til almindelig kromosomdiagnostik, 30-50 mg ved DNA-undersøgelser af monogene sygdomme.

Forholdsregler efter CVA/AC:

Den gravide kan umiddelbart efter gå hjem. Da vasovagale reaktioner kan ses anbefales det at hvile på afdelingen ca 15 min. efter prøvetagningen, hvorefter langt de fleste vil være friske. Der er intet til hinder for stillesiddende arbejde.

Den gravide skal gøres opmærksom på, at der kan optræde menstruationslignende smerter. Vaginalblødning forekommer hos få procent, men fysisk aflastning tilrådes indtil blødningen ophører. Samme forholdsregler gælder, hvis der skulle komme vandafgang. Hun skal kontakte læge, hvis smerterne tager til, eller blødningen overstiger menstruationsstyrke. Vandafgang forekommer i 0,5% og 1,7% ($p < 0.001$) efter CVS og AC. Pletblødning forekom hos 3,2% og 1,9%, blødning hos 4,7% og 1,2% og smerter hos 9,7% og 8,2% hos kvinder, der fik foretaget henholdsvis CVS og AC

(Smidt-Jensen et al 1992).

AC metode

Ved AC i Danmark udhentes gennemsnitligt 15 ml. amnionvæske. Mængden af amnionvæske udgør gennemsnitligt 30 ml. i 10. gestationsuge og øges med ca. 20 ml. pr. uge til 14. uge. Fra dette tidspunkt øges fosterets synke- og miktionsfunktion væsentligt og fostervandsmængden fordobles frem til 18. uge. I 16. uge er der ca. 200 ml. amnionvæske.

AC gennemføres transabdominalt ligesom CVS under direkte ultralydvejledning. Huden desinficeres. BPD måles og placentas lokalisation bestemmes. Der anvendes max. 0,9 mm nål med stilet. Der gøres maksimalt to indstik per session. Hvis ikke der udhentes amnionvæske herved, afventes mindst een uge. Abortrisikoen øges med antallet af indstik efter 2. forsøg.

Misfarvet (gammelblodigt) fostervand medfører en relativ risiko på 9,9 for efterfølgende abort. Nogle anbefaler, at de første 1-2 ml. fostervand bortkastes for at forhindre tilblanding af maternelle celler. Dette er ikke nødvendigt, hvis der anvendes nål med stilet.

Vedrørende amniocentese via transplacentært indstik, har mange centre undgået dette efter Tabor et al. (1986), fandt dette associeret til spontan abort.

Senere undersøgelser har dog ikke kunnet konfirmere denne risiko, tværtimod er der belæg for at transplacentært indstik beskytter mod sivning af fostervand efter prøven, en faktor som flere undersøgelser har vist i sig selv er associeret til efterfølgende abort (Giorlandino et al.1994, Johnson et al.1999).

Det tilrådes derfor at foretage amniocentesen via den adgang som er lettest, uden hensyn til placentas placering, dog bør det undgås at stikke tæt på navlesnorsinsertionen i placenta og randsinus, da blødningsrisikoen må anses for øget her. De store kar kan visualiseres med colour doppler før transplacentært indstik. Information og forholdsregler efter AC er som for CVS.

Perforation

Med ultralydmaskiner med elektroniske punkturlinier og tilkoblet nålestyr må det betragtes som en kunstfejl, hvis der forekommer direkte nålelæsioner af fosteret. På samme måde er det unødvendigt at perforere tarme eller urinblære, da disse organer fremtræder tydeligt på et godt ultralydudstyr. Ligger disse organer i vejen for et frit indstik anbefales at kvinden går en tur på en time eller kommer igen en anden dag.

Amniocentesetidspunkt

AC bør tidligst foretages efter 15 uger og det anbefales at vente til efter 16 uger, da der er øget risiko for vandafgang jo tidligere prøven tages.

AC før 14 fulde uger er vist at være associeret med en øget aborthyppighed og en signifikant højere incidens af klumpfod (talipes equinovarus) i 3 randomiserede studier (Nicolaidis et al 1994, Sundberg et al 1997, CEMAT 1998). AC bør derfor ikke foretages før 15 uger.

Komplikationer

Abort

CVS foretaget transabdominalt indebærer den samme risiko for abort som AC i 16. uge (1,0% (0,3 – 1,5%)). Abort som følge af prøvetagningen forekommer sandsynligvis i en periode på 1-3 uger efter prøven (CVS eller AC),

men kan formentlig også forekomme senere. Den egentlig mekanisme ved abort efter CVS og AC kendes ikke. Mulige årsager kan være føto-maternel blødning med forstyrrelse af den føto-maternelle barriere, blødning og hæmatomdannelse i placenta, infektion, fostervandsafgang og dekompression af uterus.

Flere undersøgelser peger på en betydelig overrisiko hvis CVS foretages gennem cervikal-kanalen (MRC working party on CVS 1991; Smidt-Jensen et al. 1992; Stengel-Rutkowski 1993).

I et nyligt dansk arbejde er det vist at risikoen for abort er associeret til antallet af CVS eller AC der foretages på den enkelte afdeling, således at få prøver øger abortrisikoen. Der anbefales derfor en vis centralisering af prøvetagningsstederne (Tabor et al. 2009).

Føto-maternel blødning

Føto-maternel (FMH) blødning forekommer ved invasive undersøgelser. Ved ca. 9. uge er den samlede mængde fosterblod 5 ml. Hos 18% der får udført transabdominal CVS forekommer en FMH større end

0,1 ml svarende til 34 kU/l AFP. Flere undersøgere har fundet en tydelig korrelation mellem AFP stigning ved CVS og mængden af udtaget væv. Flere undersøgelser godtgør en sammenhæng mellem AFP stigning og utilsigtet abort efter CVS. Ved AC forekommer FMH ligeledes hos 17%, og er associeret til øget abortrisiko. En dansk undersøgelse viste, at der ikke var øget risiko for rhesus immunisering efter amniocentese i 16. uge (Tabor et al. 1986).

Den kliniske betydning af en føtomaternel blødning er usikker. 0,1 ml fosterblod i den materielle cirkulation kan forårsage immunisering. Indtil videre er der fortsat uklarhed vedrørende anti-D administration. I Danmark gives ikke rutinemæssig anti-D i forbindelse med invasive fosterundersøgelser, hvilket er i overensstemmelse med de retningslinier Sundhedsstyrelsen forventes at udsende i år 2009.

Graviditetsforløb

Der foreligger store mængder af data (Brambati et al. 1991; Rhoads et al. 1989; Smidt-Jensen et al. 1992, Tabor et al. 1986), som viser, at der ikke forekommer flere tilfælde af placentaløsning, for tidlig fødsel, præeclampsi eller andre graviditetskomplikationer i graviditeter, hvor der er foretaget CVS eller AC.

Nyfødte

Studier har dog fundet øget forekomst af neonatal RDS (2,1%) og pneumoni (2,5%) hos børn, hvor moderen har fået foretaget AC i graviditeten (Tabor et al. 1986). Disse relativt høje tal er ikke genfundet i den canadiske CEMAT undersøgelse (1998), hvor man derimod har fundet lavere forekomster i den sene amniocentesegruppe.

Ekstremitets misdannelser

Det diskuteredes i mange år om der var en sammenhæng mellem CVS og ekstremitetsmisdannelser. Det drejede sig om typen tværsnitsmisdannelser (LRD = limb reduction defects).

Omend evidensen ikke er stærk, kan det ikke udelukkes, at CVS foretaget før uge 9 er associeret til LRD. Det må derfor anbefales ikke at foretage CVS før 9 uger, med mindre der er tungtvejende grunde hertil og kvinden er orienteret om muligheden for en øget risiko for LRD.

Cytogenetik

En ulempe ved CVS er en større forekomst af mosaicisme, end det ses ved AC. De faktiske procenter varierer mellem de cytogenetiske laboratorier, men kan være op til 1,3% for CVS (de fleste steder dog væsentligt lavere) sammenlignet med 0,25% ved dyrkning af amniocyttter. Ved CVS er der væsentlig forskel på om karyotypen er baseret på direkte analyse/korttidsdyrkning eller langtidskultur - ved AC er der forskel på om der anvendes in situ eller flask teknik ved dyrkning. Problemet er ikke af væsentlig omfang og kan afhjælpes ved at tilbyde en supplerende AC. Visse cytogenetiske problemstillinger vil være af væsentlig betydning at be- eller afkræfte gennem en efterfølgende AC. Ved mosaik-karyotype bør der altid rådføres med genetiker inden stillingtagen til evt. supplerende amniocentese, idet indikationen afhænger af analysemetode og karyotype (Smidt-Jensen et al. 1993, Vejerslev 1997). Strukturelle kromosomafvigelser, og translokationer, som påvises i trofoblastvæv repræsenterer hyppigere selve fosteret end numeriske abnormiteter.

Gemelli

CVS og AC ved gemelli foregår efter samme indikation som ved singleton graviditeter og med samme teknik. Der udføres punktur af hver enkelt placenta eller fostersæk. Det er vigtigt, at notere fostrenes indbyrdes relation, skillevæg og placenta/placentae placering, for at kunne identificere et eventuelt sygt foster, hvis der skal foretages selektivt føtucidium. Ved CVS på monochoriske gemelli udtages dog kun en prøve.

Risiko for abort efter gemelli AC i 16. uge er sammenlignelig med risikoen for AC i singleton graviditeter. Nogle undersøgelser viser, at risikoen formentlig er lidt højere end 1 % Ulempen ved gemelli AC er det sene resultat. Skal der foretages selektivt føtucidium i 18.-20. uge er risikoen for abort af begge fostre ca.10% (Evans et al. 1999).

Risiko for abort af begge fostre efter gemelli CVS er formentlig også lidt forøget (måske til 1½%). Ved gemelli CVS kan det være svært at sikre sig repræsentative materialer fra begge placentae (hos ca. 5% er der usikkerhed, om der er materiale fra begge placentae). En særlig fordel ved gemelli CVS er, at selektivt føtucidium udført før 16. uge kun indebærer en risiko for tab af begge fostre på 5% (Wapner et al. 1993).

I tilfælde af prænatal diagnostik ved gemelli må rådgivningen af forældrene tage hensyn til den diagnostiske sikkerhed ved metoden i relation til risikoen for at der skal gennemføres selektiv føtucidium. (Brock et al. 1992; Pruggmayer et al. 1992; Evans et al. 1994; Pandya et al. 1995; Sebire et al. 1996a; Sebire et al 1996b).

GUIDELINES

Indikationer for CVS eller AC:

Den gravide skal tilbydes CVS/AC, hvis risikoen for at føde et barn med Downs syndrom er $\geq 1:300$
Risikovurdering foretages på grundlag af den gravides alder, doubletest og nakkefoldsskanning , således som det fremgår af Sundhedsstyrelsens 4 år gamle anbefalinger
(I):

- Hvis der er født et barn med kromosomsygdom eller en af forældrene er bærer
- Hvis der er født et barn med en monogenetisk sygdom eller en af forældrene er bærer
- Hvis der findes en monogenetisk sygdom i den nære familie

Gravide, der opfylder kriterierne herfor, og som ønsker CVS/AC, bør tvangsfrit kunne vælge mellem de to metoder.

Risici

Risikoen for abort som følge af prøvetagningen er 1,0 % (0,3 - 1,5%) både for CVS og AC (II). Abort som følge af prøvetagningen forekommer sandsynligvis i en periode på 1-3 uger efter prøven (CVS eller AC), men kan også forekomme senere. Transplacentært indstik synes at beskytte mod sivning af fostervand efter prøven. Det tilrådes derfor at foretage amniocentesen via den adgang som er lettest, uden hensyn til placentas placering, Risikoen for abruptio placentae, præmaturitet, præeclampsi eller andre graviditetskomplikationer er ikke forhøjet efter CVS/AC (II) Risikoen for forbigående vandafgang er efter AC 1,7-2,8%, og efter CVS 0,5% (I). Der er ikke erfaring for at indlæggelse og antibiotika efter vandafgang grundet prøven bedrer tilstanden (III).

Organisation

Uddannelse af personale og vedligeholdelse af færdighederne i CVS og AC skal varetages på et højt fagligt niveau. Det enkelte udtagningssted bør udføre et vist minimum antal CVS og AC årligt, samt offentliggøre kvalitetsindikatorerne årligt (II).

Hygiejne

Der skal sikres en god hygiejnisk standard (III), hvilket bl.a. indebærer:

1. Abdomen sprittes af med Klorhexidinsprit eller jodsprit.
2. Der scannes gennem sterilt medium (gel eller sprit)
3. Transduceren afsprittes mellem hver CVS/AC, med mindre der anvendes overtræk.
4. Punkturstyret vaskes og lægges i sprit 5-20 min eller steriliseres mellem hver CVS/AC
5. Der anvendes sterile handsker
6. Tarm og blære må ikke perforeres ved CVS/AC.

CVS procedure

1. Transcervikal adgang anvendes ikke.
2. Der er ikke en absolut nedre CRL- eller gestationsaldergrænse for CVS, men grundet det spontane fostertab forekommer en nedre grænse på 10 uger rimelig (II).
3. Der anvendes UL-apparatur med nålestyr og elektronisk punkturlinie (III).
4. Ved dobbeltnålteknik bør den ydre ledenål være meget skarp med en ydre diameter på ca 1,2 mm og med et slib på ca 19 grader (Gallinis CVS sæt anses for et af de bedste).
5. Ved dobbeltnålteknik anbefales det at anvende en indre prøvetagningsnål, som er skåret lige over, men slebet skarp, med den "højeste del af skåret svarende til nålens yderside" (III).
6. Der er næppe grund til at skylle prøvetagningsnålen i heparinholdigt

dyrkningsmedium før aspirationen (II).

7. Der udhentes mindst 10 mg væv (II).
8. Den gravide kan gå direkte hjem efter CVS, men hun tilrådes at hvile, hvis hun har smerter (III).
9. Rh-negative gravide skal ikke have anti-D immunoglobulin efter CVS (II).

AC-procedure

1. AC bør ikke foretages ved gestationsalder under 15 uger + 2 dage (BPD < ca 32 mm) (II).
2. Der anvendes UL-apparatur med nålestyr og elektronisk punkurlinie (III).
3. Der anvendes en meget skarp ca 0,9 mm tyk kanyle.
4. Der gøres maksimalt 2 indstik. Hvis det er nødvendigt med yderligere indstik ventes mindst een uge (II).
5. Enten anvendes stilet eller også bortkastes de første 1-2 ml fostervand (nedsat risiko for maternel kontamination)(III).
6. Der udhentes ca 15 ml fostervand.
7. Nåle og sprøjte kan adskilles inden nålen fjernes efter endt aspiration (nedsat risiko for maternel kontamination)
8. Fostervandets farve noteres.
9. Den gravide kan gå direkte hjem efter AC, men hun tilrådes at hvile, hvis hun har smerter (III).
10. AC foretages gennem den adgang, der er lettest, uden hensyn til placentas placering, dog bør det undgås at stikke tæt på navlesnorsinsertionen i placenta og randsinus, grundet blødningsrisiko (III).
11. Rh-negative gravide skal ikke have anti-D immunoglobulin efter AC (II).

Gemelli:

1. Abortrisikoen ved AC/ CVS er ca 1½ % (II)
2. Risikoen for total abort ved fosterreduktion er 5 – 10% uafhængigt af gestationsalderen (II)
3. Det er en forudsætning, at usikkerheden om, hvorvidt de to prøver repræsenterer hvert sit foster, er væsentligt mindre end risikoen for abnormt analyseresultat. Man bør derfor afstå fra karyotype ved gemelli, hvis der er det mindste usikkerhed om begge fostre er repræsenterede (II).
4. Man noterer sig omhyggeligt den indbyrdes relation (op/ned, for/bag, højre/venstre) for fostersække, placentae og skillevæg.
5. Normalt anvendes 2 indstik, men eet indstik kan være hensigtsmæssigt (II).

Kvalitetsindikatorer:

1. Antal og hyppighed af uønsket abort indenfor 6 uger efter CVS/AC.
2. Antal og hyppighed af mislykkede AC/ CVS (d.v.s. nålen har perforeret moderens hud).
3. Hyppigheden af prøvetagning, hvor der anvendes mere end et indstik
4. Antal og hyppighed af CVS med under 10 mg væv.
5. Gennemsnitlig svartid (antal dage fra prøveudtagning til brev til pt afsendes).
6. Antal dyrkningsfejl

Indikator 1 bør være den kvalitetsindikator afdelingerne årligt opgør.

VURDERINGER

Området er præget af en lang række publikationer, hvoraf kun en meget lille del giver grundlag for evidensbaseret medicin. Vi har i guidelines forsøgt at evidensgradere de enkelte udsagn på en skala fra I til III.

Referencer

Brambati B, Terzian E and Tognoni G. Randomised clinical trial of transabdominal versus transcervical chorionic villus sampling methods. *Prenat.Diagn.* 11:285-293, 1991

Brock DJ, Rodeck CH, Ferguson-smith MA. *Prenatal Diagnosis and Screening.* 1992

CEMAT Group: Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. *Lancet.* 351: 242-47, 1998

Dansk Cytogenetisk Centralregister, Cytogenetisk Laboratorium and Psykiatrisk hospital i Århus. *Prænatale undersøgelser i Danmark* 1992, 1992

Evans MI, Goldberg JD, Horenstein J, et al. Selective termination for structural, chromosomal, and mendelian anomalies: international experience [In Process Citation]. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 893-897.

Froster & Iskenius UG and Baird P. Limb reduction defects in over one million consecutive livebirths. *Teratology* 39:127-135, 1989.

Froster UG, Jackson L. Limb defects and chorionic villus sampling: results from an international registry, 1992-94. *Lancet.* 347:489-94, 1996

Giorlandino C, Morbili L, Bilancioni E, D'Alessio P, Carcioppolo O, Gentili P, Vizzone A (1994) Transplacental amniocentesis: Is it really a high-risk procedure? *Prenat Diagn* 14, 803-806.

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; 17:801-820.

Hahnemann JM, Vejerslev LO. European Collaborative Research on Mosaicism in CVS (EUCROMIC): Fetal and extrafetal cell lineages in 192 gestations with CVS mosaicism involving single autosomal trisomy. *Am J Med Genet* 1997;70:179-187.

Holzgreve W, Tercanli S, Schneider PG, Miny P. Prenatal karyotyping: when, how and whom? *Ultrasound Obstet Gynecol* 1992;2:64-9.

Jeanty p, Shah D, Roussis P. Single needle insertion in twin amniocentesis. *J Ultrasound Med.* 9:511-7, 1990

Johnson JM, Wilson RD, Singer J, Winsor E, Harmen C, Armson BA, Benzie R, Dansereau J, Ho MF, Mohide P, Natale R, Okun N (1999) Technical Factors in Early Amniocentesis Predict Adverse Outcome. Results of the Canadian Early (EA) versus Midtrimester (MA) Amniocentesis Trial *Prenat Diagn* 19, 732-738

Klinger, K.W., Dakowski, W., Leverone, B., et al. Prenatal detection of aneuploidy of 21, 18, 13, X or Y by interphase in situ hybridization. *Am.J.Hum.Genet. Suppl* 47:A224, 1990.(Abstract)

Kuliev et al. Prenatal diagnosis 1999

Lundsteen C, Vejerslev LO. Prenatal diagnosis in Denmark. *Eur J Hum Genet.* 5 Suppl 1:14-21, 1997

Mackenzie WE and Wyldes MP. The rise and fall of early amniocentesis. *Br J Obstet Gynaecol.* 105:1242-3, 1998

MRC working party on the evaluation of chorionic villus sampling. Medical Research Council European trial of chorion villus sampling. *Lancet* 337:1491-1499, 1991.

Nicolaides KH, Brizot M, Patel F, Snijders R. Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis for fetal karyotyping at 10-13 weeks' gestation. *Lancet.* 344:435-39, 1994

Pandya PP, Hilbert F, Snijders RJM, Nicolaides KH. Nuchal tranlucency thickness and crown-rump legth in twin pregnancies with chromosomally abnormal fetuses. *J Ultrasound Med .* 14:565-68, 1995

Persson PH and Weldner BM. Normal range growth curves for fetal biparietal diameter, occipito frontal diameter, mean abdominal diameters and femur length. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 65:7:759-61, 1986

Pruggmayer MRK, Jahoda MGJ, Van der Pol JG, Baumann P, Holzgreve W, Karkut G, Lettau R et al. Genetic amniocentesis in twin pregnancies: results of a multicenter study of 529 cases. *Ultrasound Obstst Gynecol:* 2:6-10, 1992

Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SA et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N.Engl.J.Med.* 320:609-617, 1989.

Sebire NJ, Noble PL, Psarra A, Papapanagiotou G, Nicolaides KH. Fetal karyotyping in twin pregnancies: selection of technique by measurement of nuchal tranlucency. *Br J Obstet Gynaecol .* 103:887-90, 1996a.

Sebire NJ, Snijders RJM, Hughes H, Sepulveda W, Nicolaides KH. Screening for trisomi 21 in twin pregnancies by maternal age and fetal nuchal tranlucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol.* 103:999-1003,1996b.

Smidt‑Jensen, S. and Hahnemann, N. Transabdominal fine needle biopsy from chorionic villi in the first trimester. *Prenat.Diagn.* 4:163‑169, 1984.

Smidt‑Jensen S, Permin M, Philip J, et al. Randomised comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 340:1237‑1244, 1992.

Smidt‑Jensen S, Lind A‑M., Permin M, Zachary JM, Lundsteen C. and Philip J.

Cytogenetic analysis of 2928 CVS and 1075 amniocenteses from randomised studies. *Prenat.Diagn.* 13:723-740, 1993.

Stengel;Rutkowski, S. Prenatal diagnostic on chorionic villi. Final report on the documentation of the investigation within the collaborative study in the Federal Republic of Germany 1985-1991, München: Kinderzentrum München, 1993.

Strovel JW, Lee KD, Punzalan C and Schwartz S. Prenatal diagnosis by direct analysis of uncultured amniotic fluid and chorionic villus cells using interphase fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am.J.Hum.Genet. Suppl* 52:A12, 1992. (Abstract)

Sundberg K, Bang J, Smidt-Jensen S, et al. Randomised study of risk of fetal loss to early amniocentesis versus chorionic villus sampling. *Lancet.* 350: 697-703, 1997

Sundhedsstyrelsens retningslinier for prænatal diagnostik. 2004

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; i: 1287-93.

Tabor A, Vestergaard CF, Lidegaard Ø. Risk of abortion following amniocentesis and chorionic villus sampling – a national registry study of more than 50,000 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009, *in press*.

Therkelsen AJ, Jensen PKA, Hertz JM, Smidt-Jensen S and Hahnemann N. Prenatal diagnosis after transabdominal chorionic villus sampling in the first trimester. *Prenat.Diagn.* 8:19-31, 1988.

Wapner RJ, Johnson A, Davis G, Urban A, Morgan P and Jackson. Prenatal diagnosis in twin gestations: a comparison between second-trimester amniocentesis and first-trimester chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol.* 82;1:49-56, 1993

Ward BE, Gersen SL, Carelli MP et al. Rapid prenatal diagnosis of chromosomal aneuploidies by fluorescence in situ hybridization: clinical experience with 4,500 specimens. *Am.J.Hum.Genet.* 52:854-865, 1993.

Yu LC, Bryndorf T, Christensen B et al. Enumeration of specific chromosomes in uncultured fetal cells using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am.J.Hum.Genet. Suppl* 47:A287, 1990. (Abstract)

Zheng YL, Ferguson Smith MA, Warner JP, Ferguson Smith ME, Sargent CA and Carter NP. Analysis of chromosome 21 copy number in uncultured amniocytes by fluorescence in situ hybridization using a cosmid contig. *Prenat.Diagn.* 12:931-943, 1992