

Raccomandazioni per il prelievo di sangue venoso

G. Lippi^a, M. Caputo^b, G. Banfi^c, M. Buttarello^d, F. Ceriotti^e, M. Daves^f, A. Dolci^g, M. Montagnana^a, V. Miconi^h, B. Milaneseⁱ, M. Morandini^j, E. Piva^k, G.L. Salvagno^a, D. Giavarina^l

per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL-CISMEL
sulla variabilità extra-analitica del dato di laboratorio

^aSezione di Chimica Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona

^bLaboratorio di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera, Bussolengo (VR)

^cIstituto Galeazzi, Università di Milano

^dDipartimento di Medicina di Laboratorio, ULSS 16-Azienda Ospedaliera di Padova

^eLaboratorio Analisi, Istituto Scientifico H.S. Raffaele, Milano

^fLaboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano

^gLaboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Ospedaliera L. Sacco, Milano

^hLaboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Arzignano (VI)

ⁱDipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera, Desenzano del Garda (BS)

^jLaboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, AOSMA, Pordenone

^kServizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova

^lLaboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale S. Bortolo, Vicenza

Sommario

Il prelievo di sangue venoso è una procedura invasiva indispensabile per la diagnostica in vitro, poiché rappresenta un passaggio irrinunciabile per ottenere la matrice biologica da analizzare. Si tratta di una tra le più antiche pratiche mediche, utilizzata fin dall'antichità. Malgrado la fase analitica non ne sia scевра, la maggioranza degli errori in medicina di laboratorio si concentra in attività che precedono (fase preanalitica) o seguono (fase postanalitica) l'analisi dei campioni. In particolare, una percentuale variabile dal 60 al 70% degli errori si concentra nella fase preanalitica, soprattutto nelle attività in cui la componente umana è ancora determinante, come il prelievo di sangue venoso. Pertanto, compatibilmente con l'inevitabile soggettività intrinseca all'attività ed alle va-

riabili legate ad ambiente e paziente, la raccolta di campioni idonei all'esame presuppone l'attuazione di procedure appropriate e, per quanto possibile, standardizzate. La Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC), la Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL), di concerto con il Comitato Italiano per la Standardizzazione dei Metodi Ematologici e di Laboratorio (CISMEL), per mezzo del Gruppo di Studio (GdS) intersocietario sulla "Standardizzazione della variabilità extra-analitica del dato di laboratorio", si propongono con questo documento di fornire indicazioni sotto forma di raccomandazioni definite con il metodo delle conferenze di consenso, sul corretto svolgimento della procedura di raccolta dei campioni di sangue venoso.

Summary

Recommendations for collection of venous blood

Venous blood collection is an essential procedure for in vitro diagnostics, because it represents the first step to obtain a biological material suitable for analysis. Venipuncture is one of the most ancient medical practi-

ces, used since ancient times. Despite some laboratory errors might still occur in the analytical phase, most of them arise on activities that precede (preanalytical phase) or follow (postanalytical phase) sample testing. In particular, a percentage ranging from 60 to 70% of errors occur in the preanalytical phase, particularly in those activities where the human involvement is still

necessary (i.e. during venous blood collection). Therefore, consistent with the inevitable subjectivity, and with variables related to both the environment and the patient, the collection of suitable samples require implementation of appropriate and standardized procedures, whenever possible. On behalf of the Italian Society of Clinical Biochemistry and Molecular Biology (SIBioC), the Italian Society of Laboratory Medicine (SIMeL) and the Italian Committee for Standardiza-

tion and Hematological and Laboratory Methods (CISMEL), the intersociety Study Group on "Standardization of extra-analytical variability of laboratory data" has drafted a document to provide guidance in the form of recommendations defined by the method of consensus conference, on the proper development of the procedure for collecting venous blood samples. *Key-words:* blood collection, preanalytical variability, phlebotomy, recommendations, venipuncture.

Breve storia del prelievo di sangue venoso

Il prelievo di sangue venoso è una procedura invasiva indispensabile per la diagnostica in vitro, poiché rappresenta un passaggio irrinunciabile per ottenere la matrice biologica da analizzare. Si tratta di una tra le più antiche pratiche mediche, utilizzata fin dall'antichità¹. La raccolta di sangue venoso, ottenuta attraverso l'incisione di una vena con una lancetta, è descritta fin dai tempi di Ippocrate (V secolo A.C.), quando l'essenza di ogni cura medica si basava per l'appunto sull'analisi dei "quattro umori": sangue, catarro, bile gialla, e bile nera. Nel Medioevo, chirurghi e barbieri si specializzarono in questa pratica. Il palo a strisce biancorosse degli esercizi di barbiere, ancora oggi in uso in alcuni Paesi, deriva da questa attività: il rosso rappresenta il sangue prelevato, il bianco la pinza emostatica utilizzata, il palo stesso il bastone stretto nella mano del paziente per dilatare le vene. Nel XVIII e XIX secolo la raccolta di sangue venoso raggiunse una considerevole diffusione, utilizzando una varietà di metodi. La tecnica più comune si basava sulla cosiddetta flebotomia o venisezione, in cui il sangue veniva raccolto dopo incisione di una o più grosse vene esterne dell'avambraccio o del collo. La tecnica denominata arteriotomia prevedeva invece la puntura di un'arteria, solitamente quella temporale. Nella tecnica della scarificazione, infine, venivano aggrediti i vasi "superficiali", sovente utilizzando un bisturi a molla, o una tazza di vetro che conteneva aria calda, producendo una depressione all'interno. Il termine scarificatore indica uno strumento per il salasso usato principalmente nella medicina del XIX secolo, in alternativa alle sanguisughe. Il "salasso" (prelievo di grandi quantità di sangue) era considerato benefico, e molte sessioni terminavano solamente quando il paziente iniziava a manifestare sintomi sincopali. Alla fine del secolo la procedura s'avvalse dell'utilizzo di lancette affilate ma fu definita ciarlataneria se eseguita esclusivamente a scopo di salasso. Fu solo all'inizio del XX secolo, a seguito dell'introduzione di aghi e siringhe, che il prelievo di sangue venoso s'avvalse dell'uso di tecniche meno invasive e più affidabili. Un'ulteriore innovazione avvenne subito dopo la fine della seconda guerra mondiale, quando nei primi anni '50 la Becton Dickinson Co. introdusse i sistemi a vuoto "Vacutainer".

Prelievo ematico e variabilità preanalitica

Gli errori medici, oltre a rappresentare una delle principali fonti di disagio per medici e pazienti, comportano inevitabilmente anche un aggravio di spesa per il Sistema Sanitario Nazionale. Un errore medico è quasi sempre l'evento conclusivo d'una catena d'eventi ("system failure"), nella quale il contributo dell'individuo cui esso è attribuito è marginale². Malgrado nell'immaginario collettivo si tenda a identificare gli errori medici esclusivamente con la somministrazione incongrua di farmaci o gli sbagli chirurgici, gli errori diagnostici rappresentano un fenomeno rilevante in termini epidemiologici, in grado di generare gravi conseguenze sullo stato di salute del paziente e, di riflesso, sul Sistema Sanitario Nazionale (SSN). Una valida definizione d'errore in medicina di laboratorio è "qualsiasi difetto durante l'intero iter diagnostico, dalla prescrizione dell'esame alla sua comunicazione, che possa influenzare in qualsiasi modo la qualità del servizio"³. Malgrado la fase analitica non ne sia scevra, dati attendibili attestano come la grande maggioranza degli errori in medicina di laboratorio si concentri in attività che precedono (fase preanalitica) o seguono (fase postanalitica) l'analisi dei campioni. In particolare, una percentuale variabile dal 60 al 70% degli errori si concentra nella fase preanalitica, soprattutto nelle attività in cui la componente umana è ancora determinante. In quest'ambito, il prelievo ematico rappresenta la fase più critica di tutto il processo, come confermato dalla prevalenza delle non idoneità riscontrabili (errori identificativi, campioni emolitici, insufficienti, coagulati, non idonei per tipo o quantità)^{2,4,5}. Accanto alle più comuni non conformità elencate, esistono poi altre cause meno palesi ma ugualmente o anche più frequenti che possono generare risultati di laboratorio inattendibili. Si tratta soprattutto di variabili legate allo stato del paziente (esercizio fisico, dieta, stress, effetti posturali, comorbidità, abitudini voluttuarie), alle modalità d'esecuzione del prelievo, all'eterogeneità dei dispositivi utilizzati per esecuzione di prelievo e raccolta del campione, all'emolisi non identificabile all'ispezione (emolisi modesta o campioni per i quali non è prevista centrifugazione). Compatibilmente con l'inevitabile soggettività intrinseca all'attività ed alle variabili legate ad ambiente e paziente, la raccolta di campioni idonei all'esame presuppone l'attuazione di

Tabella I. Definizione della forza delle raccomandazioni, in accordo con le indicazioni dell'Istituto Superiore di Sanità.

Indice	Spiegazione
A	L'esecuzione di quella particolare procedura è fortemente raccomandata. Indica una particolare raccomandazione sostenuta da prove scientifiche di buona qualità, anche se non necessariamente di tipo I o II.
B	Si nutrono dei dubbi sul fatto che quella particolare procedura o intervento debba sempre essere raccomandata, ma si ritiene che la sua esecuzione debba essere attentamente considerata.
C	Esiste una sostanziale incertezza a favore o contro la raccomandazione di eseguire la procedura o l'intervento.
D	L'esecuzione della procedura non è raccomandata.
E	Si sconsiglia vivamente l'esecuzione della procedura.

procedure appropriate e, per quanto possibile, standardizzate. Si rammenta inoltre che le procedure di accreditamento dei laboratori clinici in accordo alle ISO 15189 estendono la necessità di documentazione e controllo delle attività ben oltre la fase analitica, abbracciando una serie di processi critici della fase preanalitica, come la raccolta dei campioni biologici^{1,4}.

Pertanto, la Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC), la Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL), di concerto con il Comitato Italiano per la Standardizzazione dei Metodi Ematologici e di Laboratorio (CISMEL), per mezzo del Gruppo di Studio (GdS) intersocietario sulla "Standardizzazione della variabilità extra-analitica del dato di laboratorio", si propongono con questo documento di fornire indicazioni sotto forma di raccomandazioni definite con il metodo delle conferenze di consenso, sul corretto svolgimento della procedura di raccolta dei campioni di sangue venoso. Questo approccio, originariamente ideato dai National Institutes of Health (NIH) e successivamente ripreso e utilizzato con modifiche e aggiustamenti sia da agenzie di Technology Assessment di vari Paesi, sia da società scientifiche e singoli gruppi professionali, consiste nella stesura di raccomandazioni da parte di un collegio al termine di una presentazione e consultazione di esperti che sintetizzano le conoscenze scientifiche su un dato argomento⁶. L'analisi critica della letteratura, condotta preliminarmente dal comitato promotore, permette un confronto tra prove disponibili e pareri o relazioni degli esperti. La scelta è in linea con le attuali indicazioni dell'ISS, che prevede di utilizzare questa soluzione qualora: (a) il tema da trattare sia limitato e possa essere suddiviso in pochi quesiti principali, (b) il tema da trattare sia controverso (non sono disponibili al momento dell'emanazione del suddetto documento linee-guida o raccomandazioni di consenso definitive in ambito nazionale) e (c) necessita di un dibattito pubblico e una presa di posizione per la pratica clinica e indirizzi per lo sviluppo della ricerca. In attesa che sia reso disponibile un ulteriore sistema unificato e condiviso, in accordo con il Programma Nazionale per le Linee Guida (PNLG)⁷, le raccomandazioni sono prodotte con un sistema di grading per quanto riguarda la "forza delle raccomandazioni" che da esse possono essere derivate

(dall'inglese "*strength of recommendations*"), espresso in lettere (da A ad E) (Tab. I).

La figura del prelevatore

A differenza di altre realtà, per lo più extra-europee, in Italia non esiste la figura professionale del "prelevatore". Nel mondo esistono, tuttavia, considerevoli eterogeneità. Nella maggior parte dei Paesi germanofoni, in Israele e in altre Nazioni, il prelievo ematico è competenza specifica del medico. Nei paesi di lingua anglosassone, va sempre più affermandosi la specifica figura professionale del "*phlebotomist*", le cui competenze si estendono al prelievamento di tutti i campioni biologici: sangue (venoso, capillare ed arterioso), urina, feci, espettorato. La figura del *phlebotomist* è anche normata; in California, a partire dal 1 gennaio 2007, è stata introdotta la certificazione obbligatoria di figure professionali diverse da medici e infermieri per poter esercitare la professione di prelevatore. Per questo motivo sono stati istituiti programmi che prevedono il completamento del processo formativo che porta alla certificazione del prelevatore, offerti o patrocinati da U.S. National Healthcareer Association (NHA), American Society of Phlebotomy Technicians (ASPT), U.S. National Phlebotomy Association (NPA), American Society for Clinical Pathology (ASCP), American Medical Technologists (AMT), American Certification Agency (ACA), U.S. National Accrediting Agency for Clinical Laboratory Sciences (NAACLS) e U.K. National Association of Phlebotomists (NAP). L'offerta formativa, idealmente simile ma diversa nei contenuti, culmina con l'attribuzione della qualifica di Limited Phlebotomy Technician (LPT), abilitato al solo prelievo di sangue capillare), Certified Phlebotomy Technician (CPT) di livello I (abilitato al prelievo di sangue capillare e venoso) e livello II (abilitato al prelievo di sangue capillare, venoso ed arterioso) o Registered Phlebotomy Technician (RPT)^{1,8}. A titolo d'esempio, il curriculum formativo previsto dall'ASCP prevede 40 ore di lezione frontale, 120 ore di tutoraggio e il completamento di 100 prelievi ematici.

In Italia non esiste attualmente alcun riferimento legislativo né indicazioni o raccomandazioni sulla figura del prelevatore, il che ha generato e genera tuttora accesi dibattiti sul tema. Sulla base di un assunto ricorren-

te, supportato dall'assenza di norme di legge che esplicitamente riservino ai medici l'effettuazione dei prelievi, si ritiene che l'attività di prelievo ematico venoso non sia di competenza esclusiva degli iscritti all'albo dei medici-chirurghi, come dimostra il fatto che essa rientra anche nelle competenze degli infermieri professionali (anche in assenza del medico, per le norme contenute nel DPR. n. 225 del 14/3/1974 e successive modifiche), rientrando pertanto nelle competenze proprie dei biologi, in quanto prodromica all'esecuzione di ricerche o di analisi biologiche sul campione di sangue prelevato. La Circolare del Ministero della Salute 8 luglio 2002, DIRP/III/BIQU/OU10014/2002, si esprime favorevolmente alla possibilità per i biologi di effettuare prelievi venosi previo possesso di una specializzazione (vedi oltre) e partecipazione a corsi formativi per l'acquisizione delle necessarie informazioni teorico-pratiche. La circolare riferisce del parere del Consiglio Superiore di Sanità del 30 ottobre 2001, sessione XLIV, sezione II. Una recente sentenza della Quinta Commissione del Consiglio di Stato (n. 457/06) stabilisce in proposito che il prelievo di sangue in vena costituisce un intervento invasivo della sfera corporale della persona che, pur se appartenente alla ordinaria amministrazione nella pratica medica (cfr. C. Cost., sentenze n. 54 del 1986, 194 del 1996 e 238 del 1996), ove non eseguito da soggetti professionalmente preparati e secondo precise tecniche e metodologie, è idoneo a ledere l'integrità fisica o addirittura la salute della persona su cui detta attività si compie. Nondimeno, confermando la decisione del TAR Lazio 912 del 2004 (con la quale si ammetteva che i biologi, a seguito di appositi corsi formativi post-laurea, possano effettuare prelievi ematici) e basandosi sulla consulenza dell'Istituto Superiore di Sanità, la sentenza sancisce che lo svolgimento delle suddetta attività può essere anche riservata a professionisti dotati di particolare qualificazione e adeguatamente formati in appositi corsi integrativi, operanti solo presso istituti, pubblici o privati, in cui è comunque assicurata la presenza di un medico in grado di sopperire ad eventuali, quanto eccezionali situazioni di rischio per la salute dei destinatari del prelievo, salvaguardando così l'art. 32 della costituzione ("La Repubblica tutela la salute come fondamentale diritto dell'individuo e interesse della collettività, e garantisce cure gratuite agli indigenti"). Ciò presuppone il possesso del diploma di specializzazione in patologia clinica, biochimica clinica, genetica medica, microbiologia e virologia o requisito equipollente; dovendo, poi, accompagnarsi a detti titoli il possesso di competenze tecnico-pratiche acquisite e certificate dalle stesse Azienda Sanitaria sulla base di corsi necessari a garantire la specifica formazione in materia da parte dei biologi, il possesso, da parte degli stessi, di idonei titoli professionali di specializzazione o, quanto meno, il possesso, certificato, di ampia ed idonea esperienza in materia nell'ambito di strutture sanitarie; così assicurando, inoltre, il possesso, da parte dei biologi, di un bagaglio

tecnico sufficiente ad escludere i pericoli, comunque superabili mediante il pronto intervento medico in caso di eccezionali evenienze. Vista l'incertezza che caratterizza questo importante aspetto dell'attività di laboratorio, sarebbe auspicabile che il vuoto legislativo fosse colmato quanto prima. Il disegno di legge "Possibilità di operare prelievi di sangue capillare e venoso sull'uomo, da parte dei biologi" presentato al Senato e comunicato alla Presidenza il 23 Gennaio 2002, rimane tuttora in fase di discussione. Ciononostante, appare ragionevole auspicare che quanto prima siano definite le figure professionali abilitate all'esecuzione di prelievi ematici in Italia, specificandone soprattutto percorso formativo, competenze e responsabilità. Alcune istituzioni e agenzie extra-europee hanno già attivato programmi di certificazione internazionali per i prelevatori; la NPA dal 1981 ad oggi ha certificato oltre 15,000 prelevatori in 50 stati degli USA, Porto Rico, Barbados, Canada e Svizzera. Indipendentemente dall'attivazione di procedure di certificazione per questa figura professionale anche in Italia, appare comunque essenziale introdurre corsi di formazione per tutti i professionisti abilitati al prelievo ematico (Raccomandazione di Grado A), comprendenti didattica frontale (informazioni di base sulle modalità idonee per la raccolta di campioni biologici, sulla loro gestione e conservazione), tutoraggio e pratica (esecuzione di un numero minimo di prelievi) (Raccomandazione di Grado A).

Dispositivi per il prelievo ematico

Le considerazioni sui dispositivi utilizzati per il prelievo di sangue venoso vertono su: (i) norme relative alla sicurezza (di paziente ed operatore), e (ii) valutazioni di natura tecnica ed economica. Fatte salve alcune eccezioni, è oggi raccomandabile utilizzare dispositivi che prevedano l'integrazione di aghi monouso, sistemi di supporto (*holder*, adattatori o "camicie") e provette primarie sottovuoto ("vacuum")⁹ (Raccomandazione di Grado A). Le siringhe rappresentano una possibile alternativa qualora: (i) in situazioni d'emergenza non sia possibile reperire dispositivi di cui sopra (Raccomandazione di Grado B), (ii) particolari situazioni anatomiche e/o fisiche rendano impossibile o sconsigliabile utilizzare i dispositivi di cui sopra (vene facilmente collassabili quando sottoposte alla pressione negativa del vuoto presente nel tubo primario) (Raccomandazione di Grado B) e sia quindi necessario graduare l'aspirazione. In nessun caso, tuttavia, il volume di sangue estratto con ogni singola siringa deve superare i 20 mL⁹. La raccomandazione si basa sul fatto che il trasferimento del sangue dalla siringa alla provetta introduce un'ulteriore variabile preanalitica, che in alcuni esami (ad esempio i test emocoagulativi), può risultare determinante per l'accuratezza degli esami. Qualora si opti per l'utilizzo della siringa, al fine di evitare contaminazione o punture accidentali, si consiglia di togliere l'ago dalla siringa utilizzando gli appositi dispositivi (mai con

le mani), far defluire lentamente il sangue nelle provette preventivamente stappate avendo cura di evitare la formazione di schiuma, riempire a volume richiesto le provette, ritappare le provette una per una, mescolare dolcemente per inversione (4-6 volte secondo le modalità già indicate) le provette contenenti anticoagulanti (Raccomandazione di Grado A).

Il rischio biologico costituisce di per sé un tipo di rischio intrinseco all'attività sanitaria, al quale l'operatore sanitario, sia esso medico, infermiere, o addetto al laboratorio di analisi, può trovarsi esposto. Sia per la sicurezza di paziente ed operatore, sia per evitare la contaminazione dei campioni, è necessario utilizzare dispositivi monouso che prevedano l'eliminazione di tutte le parti a diretto contatto con il sangue del paziente (Raccomandazione di Grado A). Raccomandazioni scientifiche relative all'utilizzo dell'*holder* sono reperibili direttiva CPL 2-2.69 della *Occupational Safety and Health Administration*¹⁰, e fanno esplicitamente riferimento ad un rischio biologico per l'operatore (e non per il paziente) addetto al prelievo e per eventuali altre figure professionali addette allo smaltimento dei rifiuti biologici. Poiché per riutilizzare l'*holder* è indispensabile eliminare l'ago utilizzato per il precedente prelievo, configurandosi il noto e documentato rischio di puntura accidentale. I dati della letteratura, le raccomandazioni ufficiali e le norme di legge sottolineano la necessità di evitare pericoli da puntura accidentale per gli operatori utilizzando sistemi che non consentano di reincappucciare aghi e ogni altro possibile oggetto tagliente utilizzato nel corso del prelievo (Raccomandazione di Grado B). La raccomandazione è anche supportata dal decreto ministeriale pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale 235 dell'8.10.1990 "Norme di prevenzione da contagio professionale da HIV", ove all'art. 2 s'introduce l'obbligo dell'eliminazione sicura del materiale utilizzato per il prelievo e si sottolinea la necessità di non reincappucciare gli aghi prima del loro avvio a smaltimento. Peraltro, molti materiali del commercio, recano la scritta "*single use only*" o "*do not re-use*" ossia "monouso" e "non riutilizzabile" e raccomandano quindi il non riutilizzo. In questi casi, il comportamento del personale addetto al prelievo deve essere coerente. La scelta sulle modalità d'utilizzo dell'*holder* può essere invece fatta considerando anche altri fattori, quali ad esempio la logistica, i costi diretti d'acquisto dei materiali e i costi indiretti per il loro smaltimento¹¹. Poiché in sintesi non sono oggi disponibili dati a dimostrazione di pericolo diretto per il paziente, né indiretto né per effetto di errori analitici da cross-contaminazione dovuti al riutilizzo della camicia, nella ragionevole certezza che l'*holder* non sia stato contaminato da sangue, esso può essere riutilizzato (Raccomandazione di Grado B). Qualora, al contrario, vi sia anche solo il sospetto di contaminazione ematica, l'*holder* non deve essere sterilizzato (Raccomandazione di Grado D) ma eliminato (Raccomandazione di Grado A).

Malgrado la comune procedura per il prelievo ema-

tico si basi sull'utilizzo di holder e aghi tradizionali, in Italia è molto diffuso l'impiego, soprattutto nei centri prelievi al di fuori del controllo diretto del laboratorio, dei dispositivi "*butterfly*", i cosiddetti aghi a "farfalla". I dati della letteratura sono concordi nel dimostrare che quando tali dispositivi sono utilizzati appropriatamente (ad esempio avendo cura di eliminare quando necessario il volume vuoto pari a 1.2-1.5 mL contenuto nel tubo che connette l'ago con l'adattatore), non vi sono influenze significative sui risultati di laboratorio^{12,13}. Le maggiori perplessità all'utilizzo routinario di questi dispositivi scaturiscono pertanto da considerazioni di natura economica, giacché il loro costo è superiore a quello degli aghi tradizionali. In linea generale, si consiglia quindi di preferire l'utilizzo di aghi tradizionali (Raccomandazione di Grado A), riservando i *butterfly* a situazioni specifiche, quali vene difficilmente accessibili con il dispositivo tradizionale per sede o calibro (Raccomandazione di Grado B) o espressa richiesta da parte del paziente (Raccomandazione di Grado B).

Anche per quanto concerne il calibro dell'ago da utilizzare non esistono indicazioni definitive. I dati della letteratura sono concordi nell'indicare che aghi di piccolo calibro, di diametro inferiore a 23 Gauge (G), possono produrre emolisi e modeste variazioni di alcuni comuni analiti (soprattutto ioni, indici fibrinolitici e conta piastrinica)^{14,15}. In linea generale, si consiglia quindi di preferire aghi di calibro pari a 20 o 21G (Raccomandazione di Grado A), riservando l'utilizzo di aghi di calibro inferiore a prelievi su vene piccole o particolarmente fragili (Raccomandazione di Grado B).

L'uso di agocannule, preferito dai servizi di Pronto Soccorso e di emergenza in genere, può essere causa di emolisi nel campione. È stato dimostrato che il prelievo attraverso agocannule è associato a maggiore emolisi, rispetto al prelievo con ago diretto^{16,17} e che i prelievi da vena invece che da agocannula riducono la percentuale di campioni emolizzati¹⁸. Il fenomeno può avere importanza diversa a seconda dei materiali; in assenza di una dimostrazione certa che il tipo di agocannula utilizzato non aumenti la percentuale di emolisi, tale dispositivo è da considerarsi sconsigliabile per il prelievo venoso (Grado A), specialmente per la ripetizione di un test precedentemente non eseguito per emolisi.

Norme per il prelievo

In genere ogni prelevatore tende a stabilire una prassi consona e familiare, che ripete nel tempo. La buona riuscita di un prelievo ematico non dipende tuttavia soltanto dalla competenza dell'operatore, ma anche da una serie di variabili indipendenti, quali il luogo, il dispositivo, l'anatomia del paziente, la sua emotività. Le considerazioni e raccomandazioni riportate in seguito rappresentano sostanzialmente una sintesi della "*best practice*" per l'esecuzione di un prelievo ematico (Tab. II).

Tabella II. Sintesi delle raccomandazioni.

Raccomandazione	Grading
Formazione dell'operatore	
Per tutti i professionisti abilitati al prelievo ematico introdurre di corsi di formazione, basati su didattica frontale, tutoraggio e pratica	Grado A
Dispositivi per il prelievo	
Utilizzare dispositivi che prevedano l'integrazione di aghi monouso, sistemi di supporto (holder o camicie) e provette primarie sottovuoto ("vacuum").	Grado A
Le siringhe rappresentano una possibile alternativa qualora:	
- in situazioni d'emergenza non sia possibile reperire dispositivi di cui sopra	Grado B
- particolari situazioni anatomiche e/o fisiche rendano impossibile o sconsigliabile utilizzare i dispositivi di cui sopra	Grado B
Utilizzare dispositivi monouso che prevedano l'eliminazione di tutte le parti a diretto contatto con il sangue del paziente	Grado A
Utilizzare sistemi che non consentano di reincappucciare aghi e ogni altro possibile oggetto tagliente utilizzato nel corso del prelievo	Grado A
Se l'holder non è contaminato da sangue, può essere riutilizzato	Grado B
Qualora, al contrario, vi sia anche solo il sospetto di una contaminazione ematica, l'holder deve essere:	
- sterilizzato	Grado D
- eliminato	Grado A
Preferire aghi tradizionali	Grado A
Utilizzare butterfly in situazioni specifiche:	
- vene difficilmente accessibili per sede o calibro con il dispositivo tradizionale	Grado B
- espressa richiesta da parte del paziente	Grado B
Preferire aghi di calibro uguale pari a 20 o 21G	Grado A
Riservare aghi di piccolo calibro a prelievi su vene molto piccole	Grado B
Non utilizzare agocannule	Grado A
Norme relative al paziente	
Identificare correttamente il paziente, utilizzando almeno due criteri, nessuno dei quali deve essere il numero di stanza del paziente	Grado A
Utilizzare un solo set di provette destinate ad un solo paziente per volta	Grado A
Prelevare sempre e solo un paziente alla volta	Grado A
Accertarsi delle condizioni fisiche del paziente	Grado A
Qualora il paziente non sia in condizioni idonee al prelievo, questo deve essere inevitabilmente differito in altra data	Grado A
Controllare la prescrizione, verificando che il numero ed il tipo di test coincidano con quelli accettati	Grado A
Siti preferenziali di prelievo (in ordine decrescente): vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica), vena basilica, vene del dorso del braccio, vene del polso e della mano. Le vene dei piedi rappresentano l'ultima risorsa.	Grado A
Sono da evitare prelievi da:	
- ampie cicatrici a seguito di ustioni o chirurgia, braccio omolaterale ad esito di mastectomia (i risultati dei test potrebbero essere alterati per la presenza di linfedema), siti contigui ad ematomi, trombi o edemi	Grado A
-dispositivi per terapia endovenosa (IV) e/o trasfusioni di sangue	Grado A
- qualora si prelevi il campione da siti d'infusione, il flusso nel dispositivo deve essere arrestato per almeno 2 minuti e devono essere eliminati non meno di 5 mL di sangue	Grado A
Per favorire il rigonfiamento della vena è possibile:	
- riscaldare brevemente il sito di prelievo, con un panno caldo	Grado B
- massaggiare il sito in senso opposto al flusso venoso	Grado B
- riscaldare brevemente il sito di prelievo con acqua calda	Grado C
- percuotere il sito	Grado D
Non applicare il laccio in presenza di:	
- vene grosse, visibili e palpabili	Grado A
- prelievo per la determinazione del pH venoso	Grado A

Raccomandazione	Grading
Se il laccio è invece necessario:	
- posizionarlo circa 10 cm al di sopra del sito prescelto	Grado A
- utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio o ostacolare la circolazione arteriosa	Grado A
- non mantenerlo in sede per più di 1 minuto	Grado A
- quando è necessario più tempo rilasciarlo e riapplicarlo	Grado A
Norme relative al campionamento	
Indossare i guanti durante il prelievo	Grado B
Utilizzare tubi primari con etichette che indichino il tipo di provetta necessaria ed il volume di campione richiesto	Grado A
Etichettare le provette prima del prelievo, mai dopo	Grado A
Utilizzare sistemi di produzione automatica delle etichette	Grado A
Utilizzare etichettatura automatica delle provette	Grado B
Detergere la cute con un batuffolo di ovatta imbevuto di prodotto idoneo, procedendo sempre nello stesso verso e poi asciugare la cute	Grado A
Seguire una sequenza specifica per la raccolta delle provette (<i>"order of draw"</i>)	Grado B
Per provetta destinata ad esami di coagulazione, non è necessario raccogliere ed eliminare una provetta precedente	Grado B
Verificare che la quantità di sangue aspirato dal tubo primario sia idonea	Grado A
Invertire gentilmente 4-6 volte le provette contenenti anticoagulante	Grado A
Non aprire mai le provette sottovuoto, ne trasferire sangue da una provetta all'altra (fatto salvo l'uso di siringhe per il prelievo)	Grado A
In presenza di errori, verificare la necessità di raccogliere altri campioni o contattare il laboratorio per delucidazioni	Grado A
Rilasciare il laccio prima di estrarre l'ago dalla vena, posizionare immediatamente un batuffolo di ovatta sul sito di prelievo, chiedendo al paziente di operare una pressione moderata sullo stesso, mantenendo il braccio disteso	Grado A
Norme da seguire al termine del prelievo	
Eliminare il materiale contaminato in appositi contenitori di sicurezza idonei per il riconoscimento del tipo di materiale	Grado A
Non reincappucciare, spezzare o frantumare direttamente l'ago utilizzato	Grado A
Verificare lo stato di salute del paziente e l'insorgenza di eventuali complicazioni	Grado A
Altre norme generali	
Osservare sempre un atteggiamento di disponibilità e cortesia	Grado A
Evitare di accanirsi con l'ago all'interno del sito di prelievo	Grado A
In caso di fallimento al primo tentativo:	
- avanzare o arretrare cautamente l'ago	Grado A
- sostituire la provetta	Grado A
- estrarre l'ago e ritentare se l'esito è ancora negativo	Grado B
- trasferire il paziente ad un collega dopo due tentativi falliti	Grado A

Norme relative al paziente

La prima operazione che il prelevatore deve compiere è accertare l'identità del paziente. Secondo le indicazioni della *Joint Commission* (JC), tale attività richiede l'utilizzo di almeno due criteri identificativi, nessuno dei quali deve essere il numero di stanza¹⁹ (Raccomandazione di Grado A). Preferibilmente questi criteri comprendono (in ordine decrescente di efficacia): controllo del braccialetto (recante codice a barre, *chip* a radiofrequenza o dati anagrafici del paziente), controllo della tessera sanitaria o altro documento, la comunicazione verbale dell'identità da parte del paziente, la verifica del nome sulla prescrizione. Secondo le indicazioni della

JC, soprattutto nelle stanze di degenza ove siano ricoverati più pazienti, il prelevatore entra in stanza con il solo set di provette destinate ad un paziente (Raccomandazione di Grado A) e preleva sempre e solo un paziente alla volta (Raccomandazione di Grado A).

Prima di eseguire il prelievo, l'operatore dovrebbe sempre accertarsi delle condizioni fisiche del paziente, ottenendo informazioni sul digiuno, sull'attività fisica e postura immediatamente precedenti il prelievo (ultimi 60-90 minuti) e sulla condizione emotiva contingente (Raccomandazione di Grado A). Qualora il paziente non sia in condizioni idonee al prelievo, questo deve essere inevitabilmente differito in altra data (Raccoman-

dazione di Grado A). Il prelevatore dovrebbe inoltre controllare personalmente la prescrizione, verificando che il numero ed il tipo di test coincidano con quelli accettati (Raccomandazione di Grado A).

La fase successiva prevede la scelta del punto di prelievo. Le vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica) sono le preferibili; in alternativa, possono essere utilizzate anche la vena basilica e quelle del dorso del braccio (Raccomandazione di Grado A). Le vene del polso e della mano sono utilizzabili qualora i precedenti siti non siano accessibili, quelle dei piedi rappresentano l'ultima risorsa a causa della maggiore probabilità di complicazioni (Raccomandazione di Grado A). Sono invece da evitare prelievi da ampie cicatrici a seguito di ustioni o chirurgia, braccio omolaterale ad esito di mastectomia (i risultati dei test potrebbero essere alterati per la presenza di linfedema), siti contigui ad ematomi, trombi o edemi (Raccomandazione di Grado A), dispositivi per terapia endovenosa (IV) e/o trasfusioni di sangue. In quest'ultima circostanza, la presenza di fluido nel dispositivo può causare emodiluzione spuria (Raccomandazione di Grado A). Qualora si decida comunque di prelevare il campione da siti d'infusione, deve essere seguita una procedura che prevede l'arresto del flusso nel dispositivo per almeno 2 minuti e la rimozione di non meno di 5 mL di sangue (Raccomandazione di Grado A). Qualora il punto di prelievo non sia immediatamente identificabile, per favorire il rigonfiamento della vena è possibile applicare il laccio emostatico, riscaldare brevemente il sito di prelievo, con un panno caldo (Raccomandazione di Grado B), massaggiare il sito in senso opposto al flusso venoso (Raccomandazione di Grado B); è in dubbio che riscaldare brevemente il sito di prelievo con acqua calda sia di qualche aiuto (Raccomandazione di Grado C) mentre non è opportuno percuotere il sito (Raccomandazione di Grado D).

Anche se il prelievo andrebbe idealmente portato a termine senza stasi venosa, l'applicazione del laccio emostatico rappresenta prassi consolidata per favorire l'identificazione del sito più idoneo ed evitare il collasso del vaso durante la procedura. Esistono tuttavia chiare indicazioni che la misurazione di alcuni parametri (albumina, elettroliti, emoglobina, ematocrito, numero di elementi corpuscolati, tempo di protrombina, D-dimero, fibrinogeno) può essere influenzata da entità (pressione esercitata dal laccio) e durata (tempo di applicazione del laccio) della stasi²⁰⁻²³. In presenza di vene grosse, visibili e palpabili, sarebbe preferibile non applicare il laccio emostatico (Raccomandazione di Grado A). Quando si renda invece necessario applicare il laccio per rendere maggiormente visibili le vene, si consiglia di procedere come segue: posizionare il laccio circa 10 cm al di sopra del sito prescelto (Raccomandazione di Grado A), utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio o ostacolare la circolazione arteriosa (il polso arterioso deve essere ancora palpabile) (Raccoman-

dazione di Grado A), non mantenere il laccio in sede per più di 1 minuto (quando è necessario più tempo per identificare una vena idonea o terminare il prelievo, il laccio può essere rilasciato e riapplicato) (Raccomandazione di Grado A). L'uso del laccio è comunque da evitare nel prelievo per la determinazione pH venoso (Raccomandazione di Grado A).

Prima di procedere al prelievo, è necessario detergere accuratamente la cute utilizzando preferibilmente un batuffolo di ovatta imbevuto di alcol isopropilico al 70% o qualsiasi altro prodotto idoneo allo scopo, procedendo sempre nello stesso verso (onde evitare di rendere vana la detersione), asciugando poi accuratamente la cute con un batuffolo di ovatta asciutto (onde evitare contatto tra sangue ed alcol, frequente causa di emolisi) (Raccomandazione di Grado A).

Norme relative al campionamento

Prima dell'esecuzione del prelievo sarebbe raccomandabile per l'operatore indossare dei guanti, onde evitare contaminazione ematica, a maggior ragione in presenza di lesioni cutanee (di paziente e/o operatore) che potrebbero contaminare individui o materiali. Nel caso sia difficoltoso il reperimento di un sito idoneo di prelievo, è possibile togliere temporaneamente i guanti per aumentare la sensibilità della palpazione. I guanti dovrebbero tuttavia essere reindossati prima di procedere al prelievo (Raccomandazione di Grado B) e comunque eliminati se contaminati o sporchi (Raccomandazione di Grado A).

Una delle principali cause di errore nella fase preanalitica è la raccolta di campioni non idonei per quantità e qualità. Ciò è riferibile all'eventualità in cui il campione abbia un volume scarso per completare l'esecuzione di tutte le analisi richieste, non sia rispettato il rapporto tra sangue ed anticoagulante (soprattutto per campioni destinati ad analisi di coagulazione o emocitometria), sia stato raccolto nella provetta sbagliata²⁵. Per ovviare a questo problema, è preferibile utilizzare provette con etichette che, oltre all'identificazione positiva del paziente, indichino specificatamente l'area diagnostica, il tipo di provetta necessaria, il volume di campione o il livello minimo di riempimento richiesto (es. "Coagulazione - Tappo Azzurro - 4.5 mL") (Raccomandazione di Grado A). In accordo alle raccomandazioni della JCAHO, le provette devono essere etichettate prima del prelievo, mai successivamente (Raccomandazione di Grado A), preferibilmente mediante sistemi di produzione automatica delle etichette (Raccomandazione di Grado A) ed etichettatura automatica delle provette (Raccomandazione di Grado B).

Poiché vi sono aneddotiche segnalazioni di cross-contaminazione dei campioni da anticoagulante contenute nel tubo primario, sono disponibili in letteratura alcune indicazioni sulla specifica sequenza delle provette durante il prelievo, il cosiddetto "order of draw". A tale proposito, il *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) suggerisce la sequenza: provette destinate al-

l'emocoltura (tappo giallo o giallo-nero), provette contenenti sodio-citrato destinate ad esami di coagulazione (tappo azzurro), provette di siero senza attivatore della coagulazione (tappo rosso), provette di siero senza attivatore della coagulazione (tappo rosso, rosso-oro o rosso-grigio), provette contenenti litio-eparina (tappo verde scuro), provette contenenti EDTA (tappo lavanda), provette contenenti citrato e destrosio (tappo giallo pallido), provette contenenti ossalato e/o fluoro (tappo grigio chiaro)⁹. Malgrado non esistano solide prove scientifiche che dimostrino la reale possibilità di cross-contaminazione tra tubi primari, l'utilizzo della sequenza descritta non comporta problemi tecnici per l'operatore e sembra quindi raccomandabile (Raccomandazione di Grado B)¹. Qualora sia richiesto il prelievo di una provetta destinata ad esami di coagulazione, non è necessario raccogliere ed eliminare una provetta precedente, poiché non è dimostrabile che la tromboplastina tissutale rilasciata dalla lesione del vaso durante il prelievo abbia significativa influenza sui test emocoagulativi (Raccomandazione di Grado B)^{1,9,24}.

Durante la raccolta dei campioni, il prelevatore verificherà che la quantità di sangue aspirato sia idonea ad eseguire le analisi richieste e, in particolare, che il rapporto con l'anticoagulante sia rispettato (Raccomandazione di Grado A). Immediatamente dopo la raccolta, le provette contenenti un anticoagulante (soprattutto sodio citrato ed EDTA, sia in soluzione che in polvere) devono essere invertite gentilmente da 4 a 6 volte, al fine di garantire la corretta miscelazione tra sangue e anticoagulante²⁵ (Raccomandazione di Grado A). Nel caso il volume di sangue raccolto nella provetta sia scarso, è assolutamente sconsigliabile aprire i tubi primari e trasferire il sangue raccolto entro provette di tipo diverso (es. trasferire sangue da una provetta contenente EDTA in una contenente sodio citrato) (Raccomandazione di Grado A), fatto salvo l'uso di siringhe per il prelievo. Contestualmente, in presenza di palesi errori di prelievo, il prelevatore verificherà la necessità di raccogliere subito altri campioni o contatterà il laboratorio per delucidazioni (Raccomandazione di Grado A).

Terminata la raccolta dei campioni, il prelevatore rilascia il laccio (se non l'ha fatto prima), estrae l'ago dalla vena e posiziona immediatamente un batuffolo di ovatta sul sito di prelievo, chiedendo al paziente di operare una pressione moderata sullo stesso, mantenendo il braccio disteso, mai piegato (Raccomandazione di Grado A).

Norme da seguire dopo il prelievo

Al termine della procedura, il prelevatore elimina tutto il materiale contaminato dal sangue del paziente (Raccomandazione di Grado A), trasferendolo in appositi contenitori di sicurezza idonei per il riconoscimento del tipo di materiale (Raccomandazione di Grado A). Per nessun motivo l'ago utilizzato per il prelievo

deve essere reincappucciato, spezzato o frantumato direttamente dall'operatore (Raccomandazione di Grado A). Il prelevatore deve anche verificare lo stato di salute del paziente (segni di malessere o collasso) e l'insorgenza di eventuali complicazioni (soprattutto ematomi) (Raccomandazione di Grado A).

Altre indicazioni

Per quanto concerne la procedura utilizzata per l'inserimento dell'ago in vena, non è possibile formulare raccomandazioni specifiche, poiché ogni prelevatore deve sviluppare una prassi individuale consona e familiare, finalizzata all'espletamento della procedura nel miglior modo possibile. Nella malaugurata circostanza in cui il tentativo di prendere la vena fallisca, si raccomanda di evitare d'accanirsi con l'ago all'interno del sito di prelievo (Raccomandazione di Grado A); ciò comporta un'inevitabile lesione dei tessuti, danni al paziente e la probabile compromissione dell'idoneità del campione. In questa circostanza, si raccomanda di avanzare o arretrare cautamente l'ago (la vena può non essere stata infilata o può essere stata oltrepassata) (Raccomandazione di Grado A), sostituire la provetta (potrebbe aver perso il vuoto) (Raccomandazione di Grado A), estrarre l'ago e ritentare se l'esito è ancora negativo (Raccomandazione di Grado A), magari considerando l'utilizzo di strumenti alternativi, quali siringa e/o butterfly. Dopo due tentativi falliti, poiché il paziente potrebbe alterarsi e l'operatore innervosirsi oltremodo, si consiglia quando possibile di lasciare il paziente ad un collega (possibilmente più esperto) (Raccomandazione di Grado A).

Poiché il prelievo ematico, per quanto banale, rappresenta pur sempre una procedura invasiva, il prelevatore deve sempre mantenere un comportamento consona alla situazione ed osservare sempre un atteggiamento di disponibilità e cortesia (Raccomandazione di Grado A).

Bibliografia

1. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC. Phlebotomy issues and quality improvement in results of laboratory testing. *Clin Lab* 2006; 52:217-30.
2. Lippi G, Guidi GC. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45:720-7.
3. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Bubboli F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem* 2002; 48:691-8.
4. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44:358-65.
5. Lippi G, Banfi G, Buttarello M, Ceriotti F, Daves M, Dolci A, et al. Recommendations for detection and management of unsuitable samples in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45:728-36.
6. Fink A, Kosecoff J, Chassin M, Brook RH. Consensus methods: characteristics and guidelines for use. *Am J Public Health* 1984; 74:979-83.
7. Programma nazionale per le linee guida. Come produrre,

- diffondere e aggiornare raccomandazioni per la pratica clinica. Manuale metodologico. Istituto Superiore di Sanità, Maggio 2002. http://www.pnlg.it/doc/Manuale_PNLG.pdf (data di consultazione: 5.8.2008).
8. Phlebotomy Certification. <http://www.alliedhealthschools.com/faqs/phlebotomy-certification.php> (data di consultazione: 5.8.2008).
 9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Document H3-A6. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Sixth Edition. Wayne, PA: CLSI; 2007.
 10. U.S. Department of Labor. Occupational Safety & Health Administration CPL 02-02-069 - CPL 2-2.69 - Enforcement Procedures for the Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens.
 11. Weinstein S, Sharron R. Safety evaluation of reusable blood collection tube holders. Portex Inc. Keene, New Hampshire (USA).
 12. Lippi G, Salvagno GL, Brocco G, Guidi GC. Preanalytical variability in laboratory testing: influence of the blood drawing technique. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 319-25.
 13. Lippi G, Salvagno GL, Guidi GC. No influence of a butterfly device on routine coagulation assays and D-dimer measurement. *J Thromb Haemost* 2005; 3:389-91.
 14. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Poli G, Guidi GC. Influence of the needle bore size on platelet count and routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2006; 17:557-61.
 15. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of the needle bore size used for collecting venous blood samples on routine clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44:1009-14.
 16. Kennedy C, Angermuller S, King R, Noviello S, Walker J, Warden J, et al. A comparison of hemolysis rates using intravenous catheters versus venipuncture tubes for obtaining blood samples. *J Emerg Nurs* 1996; 22:566-9.
 17. Grant MS. The effect of blood drawing techniques and equipment on the hemolysis of ED laboratory blood samples. *J Emerg Nurs* 2003; 29:116-21.
 18. Lowe G, Stike R, Pollack M, Bosley J, O'Brien P, Hake A, et al. Nursing blood specimen collection techniques and hemolysis rates in an emergency department: analysis of venipuncture versus intravenous catheter collection techniques. *J Emerg Nurs* 2008; 34:26-32.
 19. Joint Commission. Patient Identification. Available at: <http://www.jcipatientsafety.org/22794> (data di consultazione: 5.8.2008).
 20. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC. Venous stasis and routine hematologic testing. *Clin Lab Haematol* 2006; 28:332-7.
 21. Lippi G, Salvagno GL, Solero GP, Guidi GC. The influence of the tourniquet time on hematological testing for antidoping purposes. *Int J Sports Med* 2006; 27:359-62.
 22. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of short-term venous stasis on clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43:869-75.
 23. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Guidi GC. Short-term venous stasis influences routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005; 16:453-8.
 24. Lippi G, Franchini M, Montagnana M, Salvagno GL, Poli G, Guidi GC. Quality and reliability of routine coagulation testing: can we trust that sample? *Blood Coagul Fibrinolysis* 2006; 17:513-9.
 25. NCCLS. Document H21-A4. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline - Fourth Edition. Wayne, PA: NCCLS; 2003.