

МИНИСТЕРСТВО НА ЗДРАВЕОПАЗВАНЕТО

НАРЕДБА № 35 от 6 август 2010 г.

за утвърждаване на медицински стандарт „Клинична лаборатория“

Член единствен. (1) С наредбата се утвърждава медицинският стандарт „Клинична лаборатория“ съгласно приложението.

(2) Дейността по клинична лаборатория се осъществява при спазване на стандарта по ал. 1 и се изпълнява от всички лечебни заведения, в които се осъществява дейност по клинична лаборатория.

Преходни и заключителни разпоредби

§ 1. Лечебните заведения привеждат дейността си в съответствие с изискванията на този стандарт в двумесечен срок от влизане в сила на наредбата.

§ 2. Тази наредба се издава на основание чл. 6, ал. 1 от Закона за лечебните заведения и отменя Наредба № 10 от 2006 г. за утвърждаване на медицински стандарт „Клинична лаборатория“ (ДВ, бр. 44 от 2006 г.).

§ 3. Указания по прилагането на тази наредба се дават от министъра на здравеопазването.

§ 4. Контролът по изпълнение на наредбата се осъществява от Изпълнителна агенция „Медицински одит“, регионалните центрове по здравеопазване и органите на управление на лечебните заведения.

§ 5. За нарушение или неизпълнение на задълженията по тази наредба виновните лица се наказват по реда на Закона за лечебните заведения и Закона за здравето.

Министър: **А.-М. Борисова**

Приложение към член единствен, ал. 1

МЕДИЦИНСКИ СТАНДАРТ „КЛИНИЧНА ЛАБОРАТОРИЯ“

Раздел I

Общи положения

1. Дефиниция на специалността: клиничната лаборатория е самостоятелна медицинска специалност и научна дисциплина, която чрез количествени и качествени методи на изследване осигурява необходимата информация за ранна диагноза, контрол на динамиката на болестния процес и на ефекта на лечението, ефективна профилактика, както и на оценка на степента на възстановяване на здравето и трудоспособността.

2. Медицинският стандарт „Клинична лаборатория“ регламентира:

2.1. общите изисквания за организацията и дейността на клиничните лаборатории;

2.2. задължителния (минималния) обем показатели и апаратура за структурите по клинична лаборатория;

2.3. препоръчаните аналитични принципи за осъществяването на дейността на структурите по клинична лаборатория в Република България;

2.4. задължителните изисквания за осигуряване на качеството на лабораторните изследвания.

Раздел II

Общи изисквания

1.1. Структура на помещенията. Безопасна практика.

1.1.1. Помещенията в структурите по клинична лаборатория отговарят на действащите в страната хигиенни норми и изисквания, доказано със заключения на регионалните инспекции по опазване и контрол на общественото здраве (РИОКОЗ).

1.1.2. Наличие най-малко на следните функционално обособени сектори: чакалня; регистратура; манипуляционна; химично и цитологично изследване на урина; клинична химия; хематология; хемокоагулация; специализирани изследвания (хормони, туморни маркери, лекарства, олигоелементи и др.); миялна; складови помещения, санитарен възел. Медико-диагностичните лаборатории могат да имат самостоятелни манипуляционни, разположени извън сградата на лабораторията. В случай че към структура по клинична лаборатория бъде разкрита манипуляционна извън сградата на лабораторията, тя трябва да разполага задължително със:

а) хладилник;

б) центрофуга;

в) собствен или на куриерска организация транспорт;

г) транспортна/и чанта/и.

1.1.3. Структурата по клинична лаборатория е разположена в помещения, площта на които позволява специфичните лабораторни дейности да бъдат извършвани без компромиси с качеството, с процедурите за управление на качеството, с безопасността на персонала и грижите за здравето на пациента.

1.1.4. Структурата по клинична лаборатория притежава план за безопасна практика и осигурява извършването на специфичните лабораторни дейности.

1.1.5. Структурата по клинична лаборатория прилага правила за дезинфекция, стерилизация и деструкция на биологичните материали, съобразени с изискванията на РИОКОЗ.

1.1.6. Устройството и дейността на структурата по клинична лаборатория са регламентирани в правилника за устройството, дейността и вътрешния ред, с който са запознати всички работещи в структурата по клинична лаборатория.

1.2. Апаратура и консумативи.

1.2.1. Структурата по клинична лаборатория е оборудвана с апаратура и спомагателни технически средства съгласно изискванията, определени в този стандарт.

1.2.2. Препоръчително е в структурата по клинична лаборатория да има информационна система, отговаряща на изискванията на БДС/EN/ISO 15189.

1.2.3. Поддръжката и проверката на лабораторните технически средства се извършва от оторизирано от производителя лице и се документира с протоколи от извършените профилактични и други сервизни дейности.

1.2.4. Структурата по клинична лаборатория използва калибратори, реактиви и контролни материали съгласно изискванията на Европейската директива за „in vitro“ медицински изделия и разполага с документация за пригодност на тези средства, включително: данни за производител, партиден номер, серийен номер, аналитичен сертификат за състав и приложение за клинична диагностика, срок на годност преди отваряне, дата на доставка, дата на отваряне и годност след отваряне.

1.3. Изисквания към квалификацията на специалистите и професионалните дейности в областта на клиничната лаборатория.

1.3.1. Структурата по клинична лаборатория се ръководи от лекар, който притежава специалност по клинична лаборатория. Основните му професионални дейности са:

1.3.1.1. Организира и ръководи диагностично-лечебната работа на лабораторията.

1.3.1.1.1. Контролира трудовата и технологичната дисциплина и следи за спазването на Правилника за вътрешния ред и правилата за безопасност на труда.

1.3.1.1.2. Организира и подпомага повишаването на квалификацията и специализацията на кадрите с висше медицинско и немедицинско образование и друг персонал на лабораторията.

1.3.1.1.3. Организира и подпомага внедряването на нови високи технологии - автоматизация, роботизация, лабораторни информационни системи (ЛИС) - тесноспециализирани и общолабораторни.

1.3.1.1.4. Организира и контролира провеждането на системен вътрелабораторен качествен контрол и участието в система за външна оценка на качеството.

1.3.1.1.5. Организира и контролира връзките на лабораторията с обслужваните клинични звена или структури на доболничната помощ.

1.3.1.1.6. Ръководи, организира и контролира стопанската дейност на лабораторията.

1.3.1.1.7. Организира и провежда мероприятия за реализиране на икономии и за непрекъснато повишаване на медицинската ефективност на лабораторната дейност.

1.3.1.1.8. Оказва консултативна и методична помощ на специалисти от практиката.

1.3.2. В структурата по клинична лаборатория могат да работят следните специалисти: лекар/и със и без специалност по клинична лаборатория;

специалисти с висше медицинско и немедицинско образование (химици, фармацевти, биолози, биохимици, инженер-химици, медицински лаборанти,

специалисти по информационни технологии) и санитарни.

1.3.2.1. Професионални дейности на лекари, работещи в клинична лаборатория (със или без специалност, специализанти):

1.3.2.1.1. Работи (отговаря) за работата на определен профилиран сектор в лабораторията.

1.3.2.1.2. Контролира (извършва) провеждането и документирането на ежедневния вътрешен качествен контрол (ВКК). Контролира извършването на контролни изследвания във връзка с участието в системи за ВОК.

1.3.2.1.3. Ежедневно проверява резултатите на пациентите.

1.3.2.1.4. Спазва(контролира) технологичната дисциплина на лабораторията.

1.3.2.1.5. Отговаря за специализираната поддръжка и ремонт на лабораторната апаратура в съответствие със съществуващите разпоредби в лабораторията.

1.3.2.1.6. Участва в изготвянето на ежегодни планови заявки за диагностични набори, реактиви, химикали, консумативи, резервни части, контролни материали, калибратори.

1.3.2.1.7. Отговаря за поддържането на текущата учетна и отчетна документация на лабораторията в съответствие със съществуващите разпоредби.

1.3.2.1.8. Отговаря за непрекъснатата връзка с обслужваните клинични звена или общопрактикуващи лекари.

1.3.2.1.9. Отговаря за поддържането и актуализирането на методичния наръчник на лабораторията.

1.3.2.1.10. Участва в дежурствата за спешни и неотложни изследвания.

1.3.2.1.11. Спазва (контролира) изпълнението на Правилника за вътрешния ред и безопасността на труда.

1.3.2.1.12. Следи за поддържането на висока култура на междуличностните отношения на персонала в лабораторията.

1.3.2.2. Професионални дейности на химици, фармацевти, биолози, биохимици и инженер-химици:

1.3.2.2.1. Контролира (извършва) провеждането и документирането на ежедневния вътрешен качествен контрол (ВКК). Контролира извършването на контролни изследвания във връзка с участието в системи за ВОК.

1.3.2.2.2. Притежаващите специалност „клинична химия“ ежедневно проверяват резултатите на пациентите.

1.3.2.2.3. Спазва (контролира) технологичната дисциплина на лабораторията.

1.3.2.2.4. Отговаря за специализираната поддръжка и ремонт на лабораторната апаратура в съответствие със съществуващите разпоредби в лабораторията.

1.3.2.2.5. Подпомага изготвянето на ежегодни планови заявки за диагностични набори, реактиви, химикали, консумативи, резервни части, контролни материали, калибратори.

1.3.2.2.6. Вярно и точно попълва и навреме представя медицинската документация.

1.3.2.2.7. Участва в извършването на клинични изпитвания на аналитични методи и лабораторна техника.

1.3.2.2.8. Участва в дежурствата за спешни и неотложни изследвания.

1.3.2.2.9. Спазва (контролира) изпълнението на Правилника за вътрешния ред и безопасността на труда.

1.3.2.3. Професионални дейности на медицински лаборант:

1.3.2.3.1. Познава и спазва изискванията за подготовка на пациентите за изследване съгласно утвърден протокол.

1.3.2.3.2. Спазва правилата за вземане на венозна и капилярна кръв по съответна стандартна работна процедура.

1.3.2.3.3. Познава и спазва изискванията за транспорт и съхранение на биологичните материали за анализ по съответна стандартна процедура.

1.3.2.3.4. Познава и спазва стандартна работна процедура за идентификация на биологичните проби.

1.3.2.3.5. Владее техниката на лабораторните методи за анализ на съответните лабораторни показатели, спазвайки стандартните работни процедури.

1.3.2.3.6. Познава източниците на грешки в преданалитичния, аналитичния и следаналитичния етап на лабораторно-диагностичния процес.

1.3.2.3.7. Познава и точно прилага работните инструкции за експлоатация на лабораторната апаратура.

1.3.2.3.8. Води отговорно и безпогрешно съответната медицинска документация от негова компетентност и спазва изискванията за работа с всички модули на ЛИС.

1.3.2.3.9. Познава референтните стойности на клинично-лабораторните показатели.

1.3.2.3.10. Познава и извършва определянето на всички спешни клинично-лабораторни показатели със съответния анализатор, спазвайки съответните работни процедури.

1.3.2.4. Професионални дейности на санитаря:

1.3.2.4.1. Познава и спазва Правилника за устройството, дейността и вътрешния ред на лабораторията.

1.3.2.4.2. Познава и спазва правилата за охрана на труда и техническата безопасност и работи с предпазни средства.

1.3.2.4.3. Познава и спазва правилата за разделно събиране на болнични отпадъци съгласно утвърдена инструкция.

1.3.2.4.4. Почиства и дезинфекцира сакодръжателите за отпадъци ежедневно и при всяко видимо замърсяване.

1.3.2.4.5. Регистрира в съответния журнал количеството на изхвърлените отпадъци по вид и кодове съгласно утвърдена програма за управление на болничните отпадъци.

1.3.2.4.6. Почиства и дезинфекцира лабораториите (под, мивки, санитарен фаянс, прозорци), спазвайки съответен режим на дезинфекция и указания за работа с дезинфекционни препарати.

1.3.3. Структурата по клинична лаборатория отговаря на следните изисквания за минимален брой лекари и минимален брой специалисти с висше образование (химици, фармацевти, биолози, биохимици и др.):

1.3.3.1. Структура по клинична лаборатория към медицински център, диагностично-консултативен център, самостоятелна медико-диагностична лаборатория и I ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ - 1 лекар със специалност по клинична лаборатория.

1.3.3.2. Структура по клинична лаборатория от II ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ - 1 лекар със специалност по клинична лаборатория, 1 лекар със или без придобита специалност (лекар специализант) и 1 специалист с висше медицинско или немедицинско образование на образователно-квалификационна степен „магистър“ (химик, биохимик, магистър-фармацевт, биолог и др.).

1.3.3.3. Структура по клинична лаборатория от III ниво на компетентност в лечебно заведение за болнична помощ - 1 лекар със специалност по клинична лаборатория, 1 лекар със или без придобита специалност (лекар специализант) и 1 специалист с висше медицинско или немедицинско образование на образователно-квалификационна степен „магистър“ (химик, биохимик, магистър-фармацевт, биолог и др.).

1.3.4. Наличие на актуално щатно разписание на лабораторията.

1.3.5. Структурата по клинична лаборатория има програма за квалификация на персонала, включително за специфично обучение за осигуряване на качеството на лабораторните дейности.

1.4. Дейности.

1.4.1. Преданалитичен етап.

1.4.1.1. Структурата по клинична лаборатория трябва да има работни процедури за подготовка на пациентите за изследване, идентификация и вземане (събиране) на първичните биологични проби, за подготовка на пробите, подлежащи на анализ.

1.4.1.2. Структурата по клинична лаборатория с манипулационна, намираща се извън сградата, в която се помещава, трябва да има работни инструкции за транспорт и съхранение на биологичните проби, изпълнението на които документира с протоколи, попълнени и подписани от упълномощени лица, с регистрирани: часа и датата на вземане на биологичния материал (с точност до 15 мин.); часа и датата на получаване на биологичния материал; часа на извършване на анализа.

1.4.1.3. Структурата по клинична лаборатория има работни инструкции за регистрация и идентификация на първичните проби.

1.4.1.4. Структурата по клинична лаборатория има разписани и утвърдени от ръководителя на лабораторията документиранни критерии за приемане или отхвърляне на първични проби, както и процедури за предаване на резултатите в случай на несъответствие (пример: вид на вакуумирания съд, недостатъчен обем, видима хемолiza, вида на аналитичната проба - пример: плазма вместо серум, неспазване на срока за транспортиране, неподходящ съд или опаковка, удължен престой преди транспортиране и др.). Структурата по клинична лаборатория носи отговорност за отразяването на тези несъответствия със забележка във фиша с резултати или за неизвършването на анализа. Ако несъответстващи първични проби бъдат приети за анализ, в окончателния документ с резултатите трябва да бъде отбелязано естеството на проблема, което е предупреждение при тълкуването на резултатите.

1.4.1.5. Лабораториите могат да възлагат изпълнението на лабораторни изследвания, невлизащи в задължителния минимален обем за съответното ниво, определен с този стандарт, на лабораторни подизпълнители, с които са сключили съответен договор. Лабораторията подизпълнител трябва да изпълнява изискванията за осигуряване на качеството, определени с този стандарт.

1.4.1.6. Лабораториите могат да възлагат вземането на биологичен материал на лечебни и здравни заведения, след като представят изчерпателна писменна

инструкция за целта и сключат договор с тях. Лечебните и здравните заведения трябва да изпълняват изискванията на този стандарт за манипулационна, намираща се извън сградата, в която се помещава лабораторията, и за преаналитичен етап на съответните изследвания.

1.4.2. Аналитични процедури.

1.4.2.1. Лабораторията прилага писмени инструкции за работа с лабораторните апарати и спомагателните технически средства, които са съобразени с инструкциите на производителя.

1.4.2.2. Лабораторията прилага писмените аналитични процедури на производителя, преведени на български език, или работи със собствени работни процедури, съдържащи следната информация: индикации за изследване, аналитичен принцип, изисквания към биологичната проба, необходими реактиви, необходима апаратура и допълнителни технически средства, етапи на анализа (програма), изчисляване на резултатите, линейност, качествен контрол, референтни интервали, интерференция, клинично значение, литературни източници.

1.4.3. Следаналитичен етап.

1.4.3.1. Лабораторията има референтни граници, които предоставя на клиницистите.

1.4.3.2. Лабораторията има разработена процедура за предаване на резултатите от извършените изследвания, както и готовност за интерпретиране на резултата при изискване от възложителя.

1.4.3.3. Лабораторията има процедура за регистриране, съхранение и управление на документацията (включително може и с информационна система). Лабораторията съхранява първичната лабораторна документация, в т.ч. оригиналните апаратни данни (на хартиен или електронен носител), с които се документира реалното извършване на съответното лабораторно изследване.

Раздел III

Задължителен (минимален) обем показатели и апаратура за структурите по клинична лаборатория от различните нива на компетентност

1. Задължителен (минимален) обем лабораторни показатели за структура по клинична лаборатория към медицински център, диагностично-консултативен център, самостоятелна медико-диагностична лаборатория и структура по клинична лаборатория от I ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ.

1.1. Задължителен (минимален) спектър лабораторни показатели за структура по клинична лаборатория към медицински център, диагностично-консултативен център, самостоятелна медико-диагностична лаборатория и структура по клинична лаборатория от I ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ:

1.1.1. изследване на урина: рН, специфично тегло, полуколичествено изследване на белтък, глюкоза, кетонни тела, уробилиноген, билирубин, кръв и ориентировъчно изследване на „седимент“; микроалбуминурия; тест за бременност;

1.1.2. кръвна картина: определяне на хемоглобин, хематокрит, изброяване на еритроцити, левкоцити и тромбоцити, СУЕ, ДЖК, морфология на кръвни клетки;

1.1.3. хемостазни показатели: време на кръвене, РТ, аРТТ и фибриноген;

1.1.4. клинично-химични изследвания: глюкоза, хемоглобин А1С, креатинин, урея, общ белтък, албумин, общ билирубин, глюкуролиран билирубин (директен), желязо, ЖСК, АсАТ, АлАТ, КК, АФ, ГПТ, амилаза; пикочна киселина, холестерол, триглицериди, холестерол в HDL, холестерол в LDL; калий, натрий, калций, неорганичен фосфат;

1.1.5. изпражнения: окултни кръвоизливи.

1.2. Структурата по клинична лаборатория към медицински център, диагностично-консултативен център, самостоятелна медико-диагностична лаборатория трябва да извършва минимум 15 000 лабораторни изследвания годишно, а тази от I ниво на компетентност в лечебните заведения - 300 изследвания годишно, на едно болнично легло.

2. Задължителна лабораторна апаратура за структура по клинична лаборатория към медицински център, диагностично-консултативен център, самостоятелна медико-диагностична лаборатория и I ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ:

2.1. затворена система за вземане на биологични материали: кръв, урина, пунктати;

2.2. микроскоп/и;

2.3. хематологичен анализатор със 7 или 8 показателя;

2.4. автоматичен селективен клинично-химичен анализатор;

2.5. йонселективен анализатор или пламъков фотометър;

2.6. полуавтоматичен коагулометър.

3. Задължителен (минимален) обем лабораторни показатели за структура по клинична лаборатория от II ниво на компетентност към лечебни заведения за болнична помощ.

3.1. Задължителен (минимален) спектър лабораторни показатели за структура по клинична лаборатория от II ниво на компетентност към лечебни заведения за болнична помощ:

3.1.1. задължителният (минимален) спектър лабораторни показатели за структура по клинична лаборатория от I ниво на компетентност към лечебни заведения за болнична помощ;

3.1.2. изследване на урина и течни пунктати: количествено изброяване на клетки, количествено определяне на общ белтък;

3.1.3. кръвна картина: броене на ретикулоцити;

3.1.4. морфология на костен мозък (при изпълнение на клинични пътеки, изискващи това изследване);

3.1.5. хемостазни показатели: D-димери;

3.1.6. клинично-химични изследвания - магнезий, ЛДХ, КК-МВ;

3.1.7. имуноглобулини (Г, А и М) и други индивидуални белтъци (при изпълнение на клинични пътеки, изискващи тези изследвания);

3.1.8. С-реактивен протеин, хемоглобин А1С, тропонин, анализ на рН и газове в кръвта (при изпълнение на клинични пътеки, изискващи тези изследвания);

3.1.9. ликвор - албумин, глюкоза, хлор, АСАТ, ЛДХ и КК; диференциране на левкоцитите след оцветяване по Папенхайм.

3.2. Структурата по клинична лаборатория от II ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ трябва да извършва минимум 350 лабораторни изследвания годишно на едно болнично легло.

4. Задължителна лабораторна апаратура за структура по клинична лаборатория от II ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ:

4.1. задължителната лабораторна апаратура за структура по клинична лаборатория от I ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ;

4.2. кръвно-газов анализатор (при заболявания, изискващи изследване на КАО);

4.3. автоматичен коагулометър;

4.4. автоматичен селективен клинично-химичен анализатор;

4.5. имунохимичен анализатор (при заболявания, изискващи имунохимични изследвания).

5. Задължителен (минимален) обем лабораторни показатели и задължителна лабораторна апаратура за структура по клинична лаборатория от III ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ.

5.1. Задължителният (минимален) спектър лабораторни показатели и задължителната лабораторна апаратура за структура по клинична лаборатория от II ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ.

5.2. Допълнителни показатели и апаратура за високоспециализирани изследвания, необходими за структура по клинична лаборатория от III ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ:

5.2.1. микроелементи;

5.2.2. хомоцистеин, CRP, прокалцитонин;

5.2.3. хормони;

5.2.4. туморни маркери;

5.2.5. лекарствени и токсични вещества;

5.2.6. диагностичен ДНК анализ;

5.2.7. клетъчен имунитет и имунофенотипизиране;

5.2.8. цитокини;

5.2.9. витамини;

- 5.2.10. биомаркери на остеопорозата;
- 5.2.11. автоантитела - клетъчни, тъканни, органични;
- 5.2.12. имуноглобулини (Д и Е) и субкласове;
- 5.2.13. тромбоцитна функция (агрегация, адхезия);
- 5.2.14. тромбеластография;
- 5.2.15. биомаркери за тромбоза;
- 5.2.16. осмолалитет.

5.3. Структурата по клинична лаборатория от III ниво на компетентност в лечебни заведения за болнична помощ трябва да извършва минимум 400 лабораторни изследвания годишно на едно болнично легло.

6. Задължителният (минимален) обем показатели и апаратура за всеки тип структура по клинична лаборатория, от всички нива на компетентност, при необходимост може да бъде разширен при спазване на изискванията за качество. Това може да става и с помощта на лаборатория подизпълнител, с който е сключен договор.

7. За структура по клинична лаборатория от всички нива на компетентност, която извършва само определен вид изследвания в рамките на специалността, от минималния обем лабораторни изследвания и апаратура за лаборатория от съответното ниво, са задължителни само тези изисквания, които са необходими за извършване на съответните изследвания.

Раздел IV

Препоръчителни аналитични принципи за осъществяване на дейността

1. Използват се аналитичните принципи, възприети от Международната федерация по клинична химия и лабораторна медицина (IFCC), Института за клинични и лабораторни стандарти (CLSI), Международния комитет по стандартизация в хематологията (ICSH).

2. Аналитични принципи на клинично-химичните методи.

2.1. Субстрати и метаболити:

2.1.1. глюкоза:

а) ензимно определяне с глюкозооксидаза:

- с пероксидаза и колориметрия на хромоген;

- с измерване скоростта на кислородна консумация (глюкоанализатор);

б) ензимно определяне с хексокиназа;

2.1.2. урея: уреазен метод:

а) с колориметрия;

б) UV-спектрофотометрия (с глутаматдехидрогеназа);

2.1.3. креатинин:

а) колориметрия на креатинин-пикратния комплекс в алкална среда, без депротеинизиране, с кинетично отчитане;

б) ензимен метод;

2.1.4. пикочна киселина:

а) ензимно определяне с уриказата, пероксидаза и колориметрия (Trinder);

б) ензимно определяне с уриказата, каталаза, алдехиддехидрогеназа и директна спектрофотометрия (UV метод);

2.1.5. амоняк: UV-спектрофотометрия с глутаматдехидрогеназа;

2.1.6. общ холестерол: ензимно определяне с холестеролестераза, холестеролоксидаза, пероксидаза и колориметрия (Trinder);

2.1.7. холестерол в HDL:

а) преципитация на LDL и VLDL (с хепарин, декстран сулфат или волфрамова киселина и магнезиеви йони) и определяне на холестерола в надутаечната течност;

б) директно - имуносепарация на LDL и VLDL частици и последващо определяне на HDL-холестерола в надутаечната течност;

2.1.8. холестерол в LDL:

а) изчисление по формулата на Friedewald;

б) преципитация на LDL с хепарин и определяне на холестерола в надутаечната течност: LDL-холестерол = общ холестерол - холестерол в надутаечната течност;

в) директно, с имуносепарация на HDL и VLDL частици и последващо определяне на LDL-холестерола в надутаечната течност;

2.1.9. триглицериди:

а) ензимна хидролиза с липаза и колориметрично определяне на глицерола с глицеролкиназа, глицерофосфатоксидаза и пероксидаза (Trinder);

б) ензимна хидролиза с липаза и спектрофотометрично определяне на глицерола с глицеролкиназа, фосфокиназа и лактатдехидрогеназа (UV метод);

2.1.10. билирубин - общ:

а) колориметрия на цветния продукт, получен с диазотирана сулфанилова киселина, след прибавяне на акцелератор (кофеин, бензоат или ацетат);

б) DPD (2,5-дихлор-фенолдиазо-тетрафлуороборат метод);

в) колориметрия въз основа на намаляване на оптичната плътност след окисление на билирубина с ванадат;

2.1.11. билирубин - директен (глюкурониран):

а) колориметрия, както по-горе, без прибавяне на акцелератор;

б) DPD (2,5-дихлор-фенолдиазо-тетрафлуороборат метод);

в) DCA (дихлоранилин) метод;

г) колориметрия въз основа на намаляване на оптичната плътност след окисление на билирубина с ванадат.

2.2. Белтъци:

2.2.1. общ белтък: колориметрия на биуретовия комплекс с медни йони в алкална среда;

2.2.2. албумин: колориметрия със селективни багрила (бром крезолово зелено);

2.2.3. белтъчни фракции:

а) електрофореза на целулозоацетатни или други синтетични носители;

б) високоефективна електрофореза и имуноелектрофореза в гел на агароза;

2.2.4. индивидуални белтъци:

а) количествена имунотурбидиметрия или имунонефелометрия със специфични антитела;

б) електроимунодифузия и имунопреципитация;

2.2.5. хемоглобин А1С - използват се сертифицирани методи с проследимост до референтен метод:

а) имунотурбидиметрия;

б) ръчна или автоматична колонна хроматография;

в) високоефективна течна хроматография (HPLC);

2.2.6. фруктозамин: колориметрия на формазан, образуван от нитроблутетразолиева сол.

2.3. Електролити:

2.3.1. калий:

а) емисионна пламъкова фотометрия;

б) директно измерване с йонселективен електрод;

2.3.2. натрий:

а) емисионна пламъкова фотометрия;

б) директно измерване с йонселективен електрод;

2.3.3. хлориди:

- а) колориметрия;
 - б) кулонометрия с хлориден титратор;
 - в) директно измерване с йонселективен електрод;
- 2.3.4. калций:
- а) колориметрия (с о-крезолфталени комплексон, Арсеназо III или метил-тимолово синьо) без депротенизация;
 - б) директно измерване на йонизиран калций с йонселективен електрод;
- 2.3.5. магнезий:
- а) колориметрия;
 - б) ААС;
 - в) измерване активността на магнезиевия йон с йонселективен електрод;
- 2.3.6. неорганичен фосфат:
- а) колориметрия (на редуциран фосфо-молибденов комплекс или комплекс с алкални багрила);
 - б) UV-спектрофотометрия на нередуциран фосфо-молибденов комплекс;
- 2.3.7. желязо: колориметрия на комплекси с различни хромогени (ферозин, ферен);
- 2.3.8. общ ЖСК, определяне на серумното желязо след насищане с железен трихлорид;
- 2.3.9. осмолалитет:
- а) измерен - с осмометър, по понижение температурата на замръзване (криоскопски), или по увеличение на температурата на изпарение;
 - б) изчислен - по формула;
- 2.3.10. микроелементи (Al, Cu, Zn, As, Cd, Co, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb, Se и др.): пламъчна или електротермична атомноабсорбционна спектрофотометрия.
- 2.4. Ензими:
- 2.4.1. АсАТ: оптимизиран кинетичен двустъпален оптичен тест (340 nm, при 37 °C) с малатдехидрогеназа в трис-буфер;
- 2.4.2. АлАТ: оптимизиран кинетичен двустъпален оптичен тест (340 nm, при 37 °C) с лактатдехидрогеназа в трис-буфер;
- 2.4.3. КК: оптимизиран кинетичен тристъпален оптичен тест (340 nm, при 37 °C) с имидазолов буфер, активатор N-ацетилцистеин (NAC) и инхибитор на миокиназа;
- 2.4.4. КК-МВ изоензим:
- а) имунотурбидиметрия (определяне на „маса“);
 - б) имуноинхибиране (определяне на активност);
- 2.4.5. ЛДХ: оптимизиран кинетичен оптичен тест (340 nm, при 37 °C) с пируват като субстрат, в трис - или фосфатен буфер;
- 2.4.6. алкална фосфатаза: кинетична колориметрия на освободения p-нитрофенол при 37 °C, в глицин-NaOH или аминок-алкохол буфер;
- 2.4.7. кисела фосфатаза:
- а) кинетична колориметрия на освободения хромоген (p-нитрофенол) при 37 °C, в цитратен буфер;
 - б) кинетична колориметрия на освободения хромоген (1-нафтол с Фаст ред TR) при 37 °C, в цитратен буфер;
 - в) простатно специфичен изоензим (PAP) чрез имунологичен анализ (виж туморни маркери).
- 2.4.8. гама ГТ: кинетична колориметрия на освободения хромоген (p-нитроанилид или аминок-нитро-бензоат) при 37 °C с глицил-глицинов буфер/акцептор;
- 2.4.9. алфа-амилаза: кинетична колориметрия на освободения хромоген (2-хлоро-нитрофенол, при субстрат хлоро-нитрофенил-малтохептаозид), при 37 °C;
- 2.4.10. серумна холинестераза: кинетична колориметрия на освободения хромоген (ацетил или бутирил тиохолинйодид) при 37 °C и дитиобис-нитробензоена киселина.
- 2.5. Хормони:
- 2.5.1. хипофизни хормони в кръвен серум или плазма (аденокортикотропен хормон, тиреоид-стимулиращ хормон, соматотропен хормон, пролактин, фоликулостимулиращ хормон, лутеинизиращ хормон и пролактин): имунологичен анализ с неизотопно маркиране на антитела (индиректен имунохимичен анализ с неизотопно маркиране);
- 2.5.2. тиреоидни хормони в кръвен серум и плазма (общ Т3 и Т4, свободни Т3 и Т4, Т3-обратен, тиреоглобулин):
- имунологичен анализ с неизотопно маркиране на антигени или антитела;
 - високоефективна течна хроматография с тандем масспектрометрия;
- 2.5.3. стероидни хормони:
- а) кортикостероиди (кортизол, алдостерон) и техни метаболити в кръвен серум, плазма и в урина:
 - имунологичен анализ с неизотопно маркиране;
 - газова хроматография с конвенционална и масспектрометрична детекция;
 - високоефективна течна хроматография с тандем масспектрометрия;
- б) репродуктивни (естрогени, прогестерон, андрогени - тестостерон, андростерон и техни метаболити) в кръвен серум, плазма или урина:
- имунологичен анализ с неизотопно маркиране;
- газова хроматография с конвенционална и масспектрометрична детекция;
- в) биогенни амини - в кръвен серум и урина (адреналин, норадреналин, ванилбадемова киселина, допамин, хомованилинова киселина, серотонин, 5-ХИОК):
- колориметричен или флуориметричен анализ, след екстракция;
 - високоефективна течна хроматография с електрохимична или флуоресцентна детекция;
 - високоефективна течна хроматография с тандем масспектрометрия.
- 2.6. Лекарствени и токсични вещества в кръвен серум и урина:
- 2.6.1. автоматизиран имунологичен анализ с неизотопно маркиране;
- 2.6.2. високоефективна течна хроматография (HPLC) с конвенционална, масспектрометрична и тандем масспектрометрична детекция;
- 2.6.3. газова хроматография с масспектрометрия;
- 2.6.4. качествени методи: имунохроматографски принцип на тест-ленти - при използване за скрининг всички положителни резултати преди предаване следва да се потвърдят с един от горепосочените методи.
- 2.7. Туморни маркери (в зависимост от химическата природа на конкретния маркер):
- 2.7.1. автоматизиран имунологичен анализ с неизотопно маркирани антитела или антигени;
- 2.7.2. високоефективна течна хроматография (HPLC);
- 2.7.3. ДНК анализ на специфични мутации.
- 2.8. Показатели на киселинно-алкално състояние (кръвни газове): само автоматично (съобразно вида и възможностите на наличната апаратура в артериална или артериализирана кръв).
- 2.9. Съединително-тъканни маркери (остеокалцин, С-терминален пропептид на колаген I): имунологичен анализ с неизотопно маркирани антитела или антигени.
3. Аналитични принципи на хематологичните методи:
- 3.1. хемоглобин в пълна кръв:
- 3.1.1. колориметрия на хемиглобинцианиден комплекс;
- 3.1.2. колориметрия на комплекс с неутрални или анионни детергенти при работа с хематологични анализатори;
- 3.2. хемоглобин в плазма - директна спектрофотометрия;
- 3.3. хематокрит:
- 3.3.1. центрофужен микрохематокритен метод;
- 3.3.2. изчислен хематокрит при работа с хематологични анализатори;

- 3.4. еритроцити:
 - 3.4.1. автоматично определяне с хематологични анализатори;
 - 3.4.2. изчислени показатели на еритроцитите: MCV, MCH, MCHC, RDW. Хистограми;
- 3.5. ретикулоцити:
 - 3.5.1. микроскопски метод на Heilmeyer;
 - 3.5.2. автоматично, с флуоресцентен метър и флуоресцентно или суправитално оцветяване;
- 3.6. левкоцити:
 - 3.6.1. камерно изброяване;
 - 3.6.2. автоматично определяне с хематологични анализатори на общ брой, хистограми и други изчислени показатели;
- 3.7. левкоцити - диференциално броене:
 - 3.7.1. микроскопско диференциално броене - диференциране на 100 левкоцита;
 - 3.7.2. автоматични методи с хематологични анализатори (пресяващ метод);
- 3.8. еозинофилни и базофилни клетки:
 - 3.8.1. камерно изброяване и представяне като „абсолютен брой“;
 - 3.8.2. автоматичното диференциално броене (виж „левкоцити“);
- 3.9. тромбоцити:
 - 3.9.1. камерно изброяване с фазов контрастна микроскопия, с кокаинов, прокаинов или оксалатен разтвор;
 - 3.9.2. автоматично определяне с хематологични анализатори на общ брой, хистограми и други изчислени показатели;
- 3.10. СУЕ (скорост на утаяване на еритроцитите):
 - 3.10.1. по Westergren със стъклени пипети (референтен метод);
 - 3.10.2. „затворена система“ (при валидирана сравнимост на резултатите с референтния метод);
 - 3.10.3. автоматичен метод (ако производителят е валидирал сравнимостта на резултатите с референтния метод);
- 3.11. морфология на кръвни клетки:
 - 3.11.1. светлинна микроскопия на натривка от кръв без антикоагулант или венозна кръв с K2 EDTA, оцветена по Романовский-Giemsa или по Pappenheim;
 - 3.11.2. еритроцити - оценяват се по: форма, оцветка и включвания;
 - 3.11.3. левкоцити - оценяват се по: големина, форма, съотношение ядро/цитоплазма, структура на ядрото, наличие, брой и размер на нуклеоли, граница на ядрото, структура на цитоплазма, гранулации, граница на цитоплазма;
 - 3.11.4. тромбоцити - оценяват се по: размер, форма, цвят, гранулираност, групиране (ако не е използвана EDTA), евентуален сателитизъм;
 - 3.11.5. резултатът се съпровожда с кратък словесен коментар на клинично значимата информация;
 - 3.12. микроскопско изследване на материал от костен мозък и лимфен възел: светлинна микроскопия на натривка, оцветена по Романовский-Giemsa или по Pappenheim; резултатът да се съпровожда с кратък словесен коментар на клинично значимата информация;
- 3.13. цитохимични изследвания:
 - 3.13.1. пероксидазна активност (метод на Graham и Knoll);
 - 3.13.2. алкална фосфатаза (метод на H. Merker и L. Heilmeyer);
 - 3.13.3. неспецифични естерази;
 - 3.13.4. алфа-нафтил ацетат естераза (метод на Löffler);
 - 3.13.5. нафтол-AS ацетат естераза (метод на Wachstein и Wolf);
 - 3.13.6. нафтол-ASD-хлороацетат естераза (метод на Руденс и Буйкис);
 - 3.13.7. гликоген с PAS реакция (метод на McManus и Hotchkiss);
 - 3.13.8. масти (метод на Scheehan Storey);
 - 3.13.9. дезоксирибонуклеопротеини (ДНП), рибонуклеопротеини (РНП) и катийонни протеини (КП);
 - 3.13.10. нехемоглобиново желязо, сидероцити и сидеробласти (реакция с Берлинско синьо);
 - 3.13.11. резултатът да се съпровожда с кратък словесен коментар на клинично значимата информация.
4. Аналитични принципи при изследване кръвосъсирване и фибринолиза:
 - 4.1. измерване активността на факторите:
 - 4.1.1. коагулометрично (хронометрия - електромеханична или фотооптична - измерване времето за поява на фибринов съсирек) - автоматично, с крайноточков метод;
 - 4.1.2. колориметрично (хронометрия, измерване концентрацията на освободения хромоген при хидролиза на синтетични субстрати):
 - двуточково измерване;
 - кинетично измерване.
 - 4.2. измерване концентрацията на факторите - имунологичен анализ с неизотопно маркиране на антигени или антитела;
 - 4.3. молекулни методи - за окончателна диагноза при някои заболявания на хемостазата;
 - 4.4. материал:
 - 4.4.1. капилярна кръв - само за време на кръвене;
 - 4.4.2. цитратна кръв - венозна кръв, взета с антикоагулант, за изследване на рекалцификационно време, активирано рекалцификационно време и агрегация на тромбоцити;
 - 4.4.3. цитратна плазма, бедна на тромбоцити, за най-често изследваните показатели;
 - 4.4.4. цитратна плазма, бедна на тромбоцити, за замразяване;
 - 4.4.5. цитратна плазма, богата на тромбоцити, за функционално изследване на тромбоцити (агрегометрия);
 - 4.5. пресяващи показатели:
 - 4.5.1. брой тромбоцити (виж по-горе);
 - 4.5.2. време на кръвене - метод на Duke;
 - 4.5.3. протромбиново време (PT) - едностъпален тест на Quick (коагулометрия на активност);
 - 4.5.4. да се използват стандартизирани тромбопластини с ISI между 0,9 и 1,4, за предпочитане тези с ISI близо до 1;
 - 4.5.5. активирано парциално тромбопластиново време (аАРТТ) - коагулометрия на активност по Rodman et al., с активатори микросиликонизирани частици;
 - 4.5.6. фибриноген - коагулометрично определяне на концентрация по Clauss;
 - 4.5.7. тромбиново време (TT) - коагулометрия на активност.
 - 4.6. Специфични показатели:
 - 4.6.1. морфология на тромбоцитите (виж по-горе);
 - 4.6.2. тромбоцитна функция:
 - а) адхезия на тромбоцитите;
 - б) агрегация на тромбоцитите - автоматично с агрегометър;
 - в) ретракция на съсирека - мануално;
 - 4.6.3. тромбоцитен фактор 3 - имунологичен анализ с неизотопно маркиране;
 - 4.6.4. тромбоцитен фактор 4 - имунологичен анализ с неизотопно маркиране;
 - 4.6.5. b-тромбоглобулин - имунологичен анализ с неизотопно маркиране.
 - 4.7. Плазмени фактори - чрез измерване на:
 - 4.7.1. активност на фактора - коагулометрично или с хромогенен метод;
 - 4.7.2. концентрация на фактора - имунологичен анализ с неизотопно маркиране на антигени или антитела.
 - 4.8. Показатели на активирано кръвосъсирване:
 - 4.8.1. фибринови мономери (FM) чрез еритроцитна аглутинация или имунологично (измерване на концентрация);

- 4.8.2. фибринопептиди (имунологично измерване на концентрация);
- 4.8.3. тромбофилия - генетични фактори - ДНК анализ:
- а) APRC (F V Leiden - R 506Q) - мутации;
- б) протромбин (G 20210A);
- в) 5,10 метилентетраhydrofolatreдуктаза (MTHFR-C677 T мутация - при хиперхомоцистенемия).
- 4.9. Естествени инхибитори на кръвосъсирването:
- 4.9.1. анти тромбин III:
- а) хромогенен или коагулометричен метод (измерване активност); или
- б) имунологичен (измерване на концентрация);
- 4.9.2. протеин С:
- а) коагулометричен или хромогенен метод (определя се активност);
- б) имунологичен - концентрация;
- 4.9.3. протеин S, HC II (хепаринов кофактор), TFPI (инхибитор на пътя на тъканния фактор):
- а) хромогенен или коагулометричен метод (измерване активност);
- б) имунологичен (измерване концентрация).
- 4.10. Патологични инхибитори на кръвосъсирването:
- 4.10.1. лупусни антикоагуланти:
- а) имунологично измерване на концентрация;
- б) функционален тест - DVV, DRVVT;
- 4.10.2. фактор V Leiden - APC resistance V:
- а) активност (пресяващ);
- б) PCR (дефинитивен метод).
- 4.11. Специфични (единични) фактори на фибринолизата:
- 4.11.1. плазминоген:
- а) хромогенен, определя се активност;
- б) имунологичен - концентрация;
- 4.11.2. тъканен плазминоген активатор (t-PA) - имунологичен, определя се концентрация.
- 4.12. Показатели на фибринолитична активност:
- 4.12.1. D-димер:
- а) имунологични: латексова аглутинация - полуколичествено и количествено;
- б) имунологичен анализ с неизотопно маркиране на антигени или антитела;
- 4.12.2. плазмин - a₂-антиплазмин комплекс: имунологичен - определя се концентрация.
- 4.13. Инхибитори на фибринолизата:
- 4.13.1. a₂-антиплазмин - хромогенен метод (определя се активност);
- 4.13.2. инхибитор на плазминогеновия активатор (PAI): хромогенен метод (определя се активност), имунологичен метод (определя се концентрация);
- 4.13.3. C1 - инхибитор:
- а) хромогенен метод (определя се активност);
- б) имунологичен метод (определя се концентрация).
5. Аналитични принципи при изследване на ликвор:
- 5.1. преди центрофугиране:
- 5.1.1. оценка на макроскопския вид - цвят, прозрачност, фибринова мрежа;
- 5.1.2. изброяване на еритроцити и левкоцити в нативен ликвор, без консерванти в камера на Fushs-Rosenthal, Nageotte или Jensen с обикновена светлинна микроскопия;
- 5.2. цитологично изследване:
- 5.2.1. диференциране на типа клетки в обогатен ликвор (чрез активна седиментация, центрофугиране или филтрация) на препарат, оцветен по Giemsa или по Pappenheim;
- 5.2.2. цитохимични реакции за диференциране на типа клетки;
- 5.3. клинично-химични показатели (изследват се не по-късно от 6-ия час в надстоящата течност, получена след центрофугиране на ликвора), както в серум;
- 5.4. общ белтък:
- 5.4.1. проба на Pandy - ориентировъчно;
- 5.4.2. със сух тест за урина - ориентировъчно;
- 5.4.3. количествена турбидиметрия;
- 5.4.4. количествена колориметрия със селективни багрила (Coomassie brilliant blue, Ponceau red или Pyrogalol red);
- 5.5. албумин - имунотурбидиметрия и/или електроимунодифузия;
- 5.6. имуноглобулини (ИгГ, ИгА, ИгМ):
- 5.6.1. крайна имунодифузия с поне три стандарта;
- 5.6.2. отчитане на олиго- или поликлоналност - оптимизирана агарозна електрофореза и/или изоелектрофокусиране;
- 5.7. глюкоза - хексокиназен метод с три стандарта (от 0,5 до 4,0 mmol/l);
- 5.8. лактат - UV метод;
- 5.9. CRP - нефелометрия;
- 5.10. СК-NAС активирана: с двоен обем ликвор, вместо серум;
- 5.11. LDH: субстрат пируват, трис-буфер и двоен обем ликвор, вместо серум;
- 5.12. аденозиндезаминираща - UV метод;
- 5.13. спектрофотометрия - на 405, 415 (или 410, 418), 420, 430, 460, 540 и 630 nm.;
- 5.14. диференциране на левкоцитите - след оцветяване по Pappenheim;
- 5.15. електролити, анализ на кръвни газове, адреналин, норадреналин, лекарствени средства и други - както за серум.
6. Аналитични принципи при изследване на урина:
- 6.1. За клинично-химични и цитологични изследвания се препоръчва средна порция от втора сутрешна урина.
- 6.2. Пресяващо изследване:
- 6.2.1. оценка на макроскопския вид - цвят, мирис и други общи свойства на урината;
- 6.2.2. изследване на диуреза;
- 6.2.3. експресни (сухи) проби за полуколичествено определяне.
- 6.3. Относителна плътност:
- 6.3.1. рефрактометрично;
- 6.3.2. сухи проби (ориентировъчно); осмолалитет: с осмометър, както в серума.
- 6.4. Цитологично изследване:
- 6.4.1. формени елементи на урина при спазване на стандартни условия - препоръчва се микроскопия с фазов контраст;
- 6.4.2. клинично-химични показатели (количествено определяне):
- а) общ белтък:
- нефелометрия или турбидиметрия на преципитацията с трихлороцетна киселина или бензетониев хлорид;
 - ръчна или автоматична колориметрия на белтъчен комплекс със свързващи бои (Coomassie brilliant blue, Ponceau red, Pyrogalol red);

- б) албумин: имунофелометрично, имунотурбиметрично или друг имунологичен анализ с неизотопно маркиране;
 в) а₁-микроглобулин - имунологичен анализ;
 г) креатинин - както в серум (виж), но след разреждане 1:100;
 д) деоксиридин - имунологичен с неизотопно маркирани антигени и антители;
 е) глюкоза, ензими, метаболити, електролити, хормони и други: съгласно принципите, използвани при определяне в серум.

Раздел V

Задължителни изисквания за осигуряване качеството на лабораторните изследвания

1. Преданалитичен етап.

- 1.1. Лабораторията извършва дейността си по работни процедури за подготовка на пациентите за изследване, идентификация и вземане (събиране) на първичните биологични проби, за подготовка на пробите, подлежащи на анализ.
 1.2. Лабораторията има работни инструкции за регистрация и идентификация на първичните проби.
 1.3. Лабораторията има документирани критерии за приемане или отхвърляне на първични проби, както и процедури за предаване на резултатите в случай на несъответствие (напр. вид на вакуумирания съд, недостатъчен обем, видима хемолиза, вида на аналитичната проба - плазма в серум, неспазване на температурния режим, неподходящ съд или опаковка, неспазване срока за транспорт, удължен престой преди транспорт и др.). Лабораторията носи отговорност да отрази тези несъответствия със забележка във фиша с резултати или да не извършва анализа. Ако компрометираните първични проби бъдат приети и изследвани, в окончателния документ с резултатите се отбелязва естеството на проблема, което е предупреждение при тълкуването на резултатите.
 1.4. Допълнителни изисквания за манипулационни, разположени извън сградата на лабораторията:
 1.4.1. изисквания за транспорт на биологичните проби: консерванти, опаковка, контейнер;
 1.4.2. протоколи (работен лист или др. форма) с регистрирани дата, час на вземане, дата и час на получаване на биологичния материал с подписи на упълномощените лица.
 Специфичните изисквания за транспорт и съхранение на различни биологични материали са посочени в приложение № 1:

Приложение № 1

Специфични изисквания за преданалитичния етап

1. Подготовка за транспорт:

- а) епруветката с биологичната проба се опакова в абсорбираща тъкан;
 б) поставя се в добре затворен пластмасов съд;
 в) опакова се с хартия или с найлон, непропускащи светлина;
 г) размерът на поне една от страните на пакета да бъде най-малко 10/10 см;
 д) надписване на пакета с данни за изпращач и получател и вида на биологичния материал, дата и час на изпращане.

Таблица 1

Стабилност на биологичните проби за най-честите лабораторни изследвания

Биологична проба за	Съхранение при 20 - 25 °C	Съхранение при 4 - 8 °C	Коментар
1	2	3	4
Хематологични изследвания			
RBC	48 h	72 h	
Hb	72 h	72 h	
Hct	6 h	24 h	
MCV	48 h	48 h	
WBC	24 h	24 h	
ThR	24 h	24 h	
Диф. броене			
Автоматично	до 4 h	до 4 h	
Натривка	7 дни		K ₃ - K ₂ EDTA: Приготвя се нецветена кръвна натривка до 2 часа след венепункцията.
Ретикулоцити	до 10 h	48 h	
CYE	до 2 h		
Коагулационни			

изследвания			
Протромбино во време			
•пълна кръв	24 h	не се препоръчва	
АРТТ			
•пълна кръв	до 4 h	не се препоръчва	
•при лечение с нефракционни ран хепарин	до 1 h	не се препоръчва	
Фибриноген — Clauss			
— имунохимично	1 ден 7 дни	1 ден 7 дни	стабилността е в зависимост от метода
D-Dimer	до 8 h	4 дни	
*Клинично- химични изследвания (серум отделен до 2 часа от вземането на кръвта)	Центрофугира н серум или плазма до 2 часа след венепункцията 20 - 25 °C	Центрофугира н серум или плазма до 2 часа след венепункцията 4 - 8 °C	
Ензими			
amylase		7 дни	
ASAT	56 h	7 дни	
ALAT	40 h	7 дни	
gGT	4 h	7 дни	
ALP	56 h	7 дни	
LDH	4 h	4 дни	
СК	56 h	1 м.	
СК-МВ		7 дни	
Липаза	7 дни	3 седмици	
Субстрати, метаболити, електролити			
Албумин	8 h	5 месеца	
Общ белтък	16 h	4 седмици	
*Билирубин, общ	56 h	7 дни	* съхрява се на тъмно при престой >8 h
*Билирубин, директен	56 h	7 мес.	
Холестерол	4 h	7 дни	
Триглицерид и	56 h	7 дни	
Креатинин	8 h	7 дни	
Урея	56 h	7 дни	

Пикочна киселина	8 h	7 дни	
*Глюкоза		*7 дни	* със стабилизатор флуорид, монойод-ацетат, маноза
Калций, общ	8 h	3 седмици	
Неорг. фосфор	8 h	4 дни	
Калий	4 h	6 седмици	
Натрий	56 h	2 седмици	
Желязо		3 седмици	
Магнезий	4 h	7 дни	

2. Аналитичен етап.

2.1. Всяка лаборатория е задължена да провежда системен вътрешен контрол на качеството.

2.1.1. Основни положения:

2.1.1.1. вътрешният контрол на качеството е статистически и се провежда чрез използване на контролни проби. Оценяват се:

а) отклонението на лабораторния резултат от „прицелна стойност“ при еднократно определяне на контролната проба като мярка за общата грешка (негочността);

б) случайното разсейване на резултатите от определянето на контролни проби като мярка за невъзпроизводимостта (случайни грешки);

в) системното отклонение на резултатите от определянето на контролни проби (средна аритметична стойност) от „прицелната стойност“ като мярка за недостоверността (системни грешки);

2.1.1.2. при определяне на единични контролни проби се използват такива със стойности в клинично значимите области;

2.1.1.3. за определяне на стандартното и системното отклонение на резултатите се използва една контролна проба в една аналитична серия;

2.1.1.4. статистическият вътрешен контрол на качеството се извършва с контролен материал с известни прицелни стойности; във всяка аналитична серия се изследва контролна проба; резултатът за контролната проба се оценява и документира, преди резултатите от пробите на пациенти да бъдат пуснати.

2.1.2. Вътрешен контрол на качеството с една контролна проба - начин на извършване и оценка.

2.1.2.1. Във всяка аналитична серия се изследва най-малко една контролна проба. За различни аналитични серии се използват контролни проби със стойности в различни клинично значими концентрационни области.

2.1.2.2. Изчисляване на контролните граници. Контролните граници се определят от резултатите на 20 контролни проби, получени в 20 последователни серии (20 календарни дни). Изчисляват се средната аритметична стойност, стандартното отклонение (SD) и вариационният коефициент (CV), като:

а) отклонението на средната аритметична стойност от „прицелната стойност“ трябва да е по-малко или равно на посоченото (в приложението към този раздел) максимално допустимо отклонение;

б) вариационният коефициент трябва да е по-малък или равен на посочения в приложението към този раздел максимално допустим вариационен коефициент (CV).

2.1.2.3. На контролната карта се нанасят:

а) определената средна аритметична стойност;

б) контролните граници (средната аритметична стойност ± 1 SD, ± 2 SD и ± 3 SD).

2.1.2.4. Получените резултати от определянето на контролните проби в различните аналитични серии (календарни дни) се нанасят на контролната карта.

2.1.2.5. Документацията на вътрелабораторния качествен контрол съдържа:

а) обозначение на лабораторията;

б) обозначение на работното място;

в) дата и час на определянето;

г) лабораторен показател, материал за изследване, мерни единици;

д) използван аналитичен метод;

е) получен резултат от определянето на контролната проба;

ж) „прицелна“ стойност (посочената от производителя стойност за използвания от лабораторията аналитичен метод или стойност, получена с референтен метод);

з) относително (d %) и абсолютно отклонение (разлика) от „прицелната“ стойност;

и) наименование, производител и сериен номер на контролния материал;

й) име и подпис на извършилия изследването;

к) стандартна работна процедура за действие в случай на констатиране на несъответствия по т. 1.2, 1.3 и 1.4.

2.1.2.6. При резултат за контролната проба извън контролните граници (x ср. ± 3 SD) или по-голямо отклонение от максимално допустимото, посочено в приложение № 2 към този раздел, първо се търсят причините, като се проследява основно цялата аналитична процедура. Взема се отговорно решение дали цялата серия, включително контролната проба, да се повторят или след като се оцени медицинското значение и последствията, да се пусне цялата или част от аналитичната серия с резултати от проби на пациенти.

2.1.3. Оценка на невъзпроизводимостта.

2.1.3.1. Получените резултати от определянето на контролни проби във всяка серия проби на пациенти в края на контролния цикъл се използват за изчисляване на стандартно отклонение (SD), респ. вариационен коефициент (CV).

2.1.3.2. Ако SD, респ. CV, надхвърлят допустимите стойности (по приложение № 2 към този раздел), задължително се търсят и отстраняват причините

за нарастването на случайните грешки. Всички извършени коригиращи действия се протоколират.

2.1.3.3. Ако в следващия контролен цикъл CV отново надхвърли допустимите граници, аналитичният метод не се използва за изследване на проби на пациенти, докато причините не бъдат установени и отстранени. Всички предприети коригиращи действия се протоколират.

2.1.4. Оценка на недостоверността.

2.1.4.1. В края на всеки контролен цикъл от стойностите на използваните контролни проби във всяка серия проби на пациенти се изчислява системното отклонение на резултатите. Като мярка за системното отклонение служи разликата между средната аритметична и прицелната стойност (bias, d %).

2.1.4.2. Системното отклонение не трябва да надвишава максимално допустимото системно отклонение (по приложение № 2 към този раздел). Ако това не е така, се търсят и отстраняват причините. Всички предприети коригиращи действия се протоколират.

2.1.4.3. Ако в следващия контролен цикъл системното отклонение отново надвишава максимално допустимото, се преустановява използването на дадения метод за изследване проби на пациенти, докато не се установят и отстранят причините. Всички предприети коригиращи действия се документират.

2.1.4.4. Всички резултати от вътрешния качествено контрол се документират. Резултатите от ВКК се съхраняват 5 години заедно със съответните изчисления (средна аритметична стойност, стандартно отклонение, разлика между средната аритметична и прицелната стойност). За същия период от време се съхраняват и протоколите за предприети коригиращи действия.

2.2. Външна оценка на качеството:

2.2.1. Всяка клинична лаборатория е задължена да участва в национална или чуждестранна нетърговска система за външна оценка на качеството.

2.2.2. Оценката на резултатите се основава на прицелна стойност, определена като „съгласувана“ стойност и максимално допустимите отклонения от нея. За участниците в националната система за външна оценка на качеството оценъчните критерии са посочени в приложение № 2 към този раздел.

2.2.3. Задължения на участниците в системата за външна оценка на качеството (СВОК).

2.2.3.1. Лабораторията изследва получените контролни материали при рутинни условия (както се изследват пробите на пациенти). Получените резултати се нанасят в предназначения за това формуляр, като се кодират използваните метод, апарат, реактиви, калибратори и контролни материали. За участниците в националната система за външна оценка на качеството ръководителят на лабораторията удостоверява със своя подпис, че изследването на контролния материал е направено в неговата лаборатория под негов контрол, и удостоверява това чрез съхранение на оригиналните резултати от анализаторите.

Лабораторията е длъжна да съхранява в срок от 5 години оригиналните апаратни резултати от изследването на контролните материали (на хартиен или електронен носител).

2.2.3.2. СВОК издава сертификат на всяка участваща лаборатория след приключване на съответен контролен цикъл. В сертификата на СВОК са посочени: програмата, за която се издава сертификатът, и включените в нея лабораторни показатели, датата на провеждане на контролния цикъл и срокът на валидност на сертификата.

2.2.3.3. Получената оценка задължително се обсъжда. Ако има показатели, отклоняващи се от съгласуваната стойност повече от максимално допустимото (по приложението към този раздел), се търсят и отстраняват причините. Всички предприети коригиращи действия се извършват съгласно предварително утвърдена стандартна работна процедура и се документират.

Приложение № 2

Таблица 2а

Изследване на серум/плазма

№ по ред	Показател	Мерна единица	Максимално допустима невъзпроизводимост (CV)	Максимално допустимо процентно отклонение на средна аритметична стойност от „прицелната стойност“ (d %)	Максимално допустимо процентно отклонение от „съгласувана стойност“ (СВОК)	Област на измерване
1	2	3	4	5	6	7
1.	Албумин	g/l	6 %	11 %	23 %	
2.	Алдостерон	pmol/l	10 % 30 pmol/l	25 % 75 pmol/l	45 % 135 pmol/l	> 300 pmol/l < 300 pmol/l
3.	Алкална фосфатаза ЕС 3.1.3.1	IU/l 37 °C	7 %	7 %	21 %	
4.	Алфа-амилаза	IU/l 37 °C	10 %	10 %	30 %	
5.	Билирубин (общ)	µmol/l	7 % 1,7 µmol/l	12 % 3,5 µmol/l	26 % 7,0 µmol/l	> 26 µmol/l < 26 µmol/l
6.	Калций (общ)	mmol/l	3 %	5 %	11 %	
7.	Карбамазепин	Масконцентрация	7 %	7 %	21 %	
8.	Хлорид	mmol/l	2 %	4 %	8 %	
9.	Холестерол (общ)	mmol/l	3 %	7 %	13 %	
10.	Холинестераза ЕС 3.1.1.8	IU/l 37 °C	6 %	6 %	18 %	

11.	Кортизол	nmol/l	8 %	18 %	34 %	> 200 nmol/l < 200 nmol/l
12.	Креатинкиназа EC 2.7.3.2	IU/l 37 °C	5 % 2,5 IU/l	10 % 5 IU/l	20 % 10 IU/l	> 50 IU/l < 50 IU/l
13.	CRP (C-реактивен протеин)	mg/l	5 %	5 %	15 %	
14.	Дигитоксин	nmol/l	8 %	12 %	28 %	> <
15.	Дигоксин	nmol/l	8 %	18 %	34 %	> <
17.	Белтъчни фракции (электрофореза)	g/l				
	- албумин		3,3 %	3,3 %	10 %	
	- гама-globulin		8 %	8 %	11 24 %	
18.	Естрадиол, 17-бета	pmol/l	12 %	22 %	46 %	> 300 pmol/l < 300 pmol/l
19.	Феритин	µg/l	8 %	8 %	24 %	
20.	алфа-Fetoprotein (AFP)		8 %	8 %	24 %	
21.	гама-глутамил-транс- фераза (гама-GT) EC 2.3.2.2	IU/l 37 °C	6 % 2,4 IU/l	11 % 4,4 IU/l	23 % 9,2 IU/l	> 40 IU/l < 40 IU/l
22.	Общ белтък	g/l	3 %	5 %	11 %	
23.	Глюкоза	mmol/l	4 % 0,13 mmol/l	7 % 0,23 mmol/l	15 % 0,50 mmol/l	> 3,3 mmol/l < 3,3 mmol/l
24.	Aspartat-Amino- transferasa (ASAT) EC 2.6.1.1	IU/l 37 °C	6 % 2,4 IU/l	11 % 4,4 IU/l	23 % 9,0 IU/l	> 40 IU/l < 40 IU/l
25.	Alanin-Amino- transferasa (ALAT) EC 2.6.1.2	IU/l 37 °C	6 % 2,4 IU/l	11 % 4,4 IU/l	23 % 9 IU/l	> 40 IU/l < 40 IU/l
26.	Пикочна киселина	µmol/l	4 %	6 %	14 %	
27.	Урея	mmol/l	7 %	12 %	26 %	
28.	Човешки Хорионгонадотропин (hCG)	mU/ml	12 %	12 %	36 %	> 5 mU/ml < 5 mU/ml
29.	Имуноглобулин А	g/l	7 %	12 %	26 %	
30.	Имуноглобулин Г	g/l	5 %	8 %	18 %	
31.	Имуноглобулин М	g/l	7 %	12 %	26 %	
32.	Калий	mmol/l	2,7	3,7	9,1	
33.	Креатинин	µmol/l	5 % 5,3 µmol/l	9 % 9,7 µmol/l	19 % 17,7 µmol/l	> 106 µmol/l < 106 µmol/l
34.	Лактат	mmol/l	6 %	6 %	18 %	
35.	Лактат-деhidро- геназа (LDH) EC 1.1.1.27	IU/l 37 °C	5 %	10 %	20 %	
36.	Литий	mmol/l	3 % 0,03 mmol/l	6 % 0,06 mmol/l	12 % 0,12 mmol/l	> 1,0 mmol/l < 1,0 mmol/l
37.	Магнезий	mmol/l	4 % 0,032 mmol/l	7 % 0,056 mmol/l	15 % 0,12 mmol/l	> 0,8 mmol/l < 0,8 mmol/l
38.	Натрий	mmol/l	1,5 %	2,0 %	5 %	
39.	Активирано	s	6 %	6 %	18 %	

парциално тром-
бопластиново
време (аРТТ)

40.	Фенобарбитал	μmol/l	7 %	7 %	21 %	
41.	Фенитоин	μmol/l	8 %	8 %	24 %	
42.	Фосфат (неорганичен)	mmol/l	5 %	8 %	18 %	
43.	Примидон	μmol/l	8 %	8 %	24 %	
44.	Прогестерон	nmol/l	12 % 0,48 nmol/l	21 % 0,84 nmol/l	45 % 1,8 nmol/l	> 4 nmol/l < 4 nmol/l
45.	Простатно-специфичен антиген (PSA)	μg/l	10 %	10 %	30 %	
46.	Тестостерон	nmol/l	10 % 0,5 nmol/l	20 % 1,0 nmol/l	40 % 2,0 nmol/l	> 5,0 nmol/l < 5,0 nmol/l
47.	Тироксин (общ,Т4)	nmol/l	8 % 6,4 nmol/l	14 % 11,2 nmol/l	30 % 24 nmol/l	> 80 nmol/l < 80 nmol/l
48.	Тиреотропен хормон (TSH)	mIU/l	6 %	6 %	18 %	
49.	Трийодтиронин (общ, Т3)	nmol/l	8 %	8 %	24 %	
50.	Триглицериди	mmol/l	4 %	10 %	18 %	
51.	Тромбопластиново време	S INR	8 %	8 %	24 %	
52.	Валпроева киселина	μmol/l	8 %	8 %	24 %	
53.	Тропонин Т/І	mg/ml	10 %	10 %	33 %	

Таблица 2б

Изследване на ликвор

№ по ред	Показател	Мерна единица	Максимално допустима невъзпроизводимост (CV)	Максимално допустимо процентно отклонение на средна аритметична (n=10) от „прицелната стойност“ (d %)	Максимално допустимо процентно отклонение от „съгласувана стойност“ (НСВОК)	Област на измерване
1.	Албумин	g/l	8 % 0,0024 g/l	8 % 0,0024 g/l	24 % 0,0072 g/l	> 0,03 g/l < 0,03 g/l
2.	Общ белтък	g/l	10 % 0,01 g/l	10 % 0,01 g/l	30 % 0,03 g/l	> 0,01 g/l < 0,01 g/l
3.	Глюкоза	mmol/l	5 % 0,28 mmol/l	5 % 0,28 mmol/l	15 % 0,83 mmol/l	> 5,5 mmol/l < 5,5 mmol/l
4.	Имуноглобулин А	g/l	15 %	15 %	45 %	
5.	Имуноглобулин Г	g/l	10 %	10 %	30 %	
6.	Имуноглобулин М	g/l	15 %	15 %	45 %	
7.	Лактат		6 %	6 %	18 %	

Таблица 2в

Изследване на урина

№ по ред	Показател	Мерна единица	Максимално допустима невъзпроизводимост (CV)	Максимално допустимо процентно отклонение на средна аритметична (n=10) от „прицелната стойност“ (d %)	Максимално допустимо процентно отклонение от „съгласувана стойност“ (НСВОК)	Област на измерване
1	2	3	4	5	6	7
1.	Албумин	g/l	10 % 0,03 g/l	10 % 0,03 g/l	30 % 0,09 g/l	> 0,3 g/l < 0,3 g/l
2.	Калций	mmol/l	5 % 0,1 mmol/l	5 % 0,1 mmol/l	15 % 0,3 mmol/l	> 2 mmol/l < 2 mmol/l
3.	Хлорид	mmol/l	4 %	6 %	14 %	
1	2	3	4	5	6	7
4.	Общ белтък	g/l	8 % 0,08 g/l	8 % 0,08 g/l	24 % 0,24 g/l	> 1 g/l < 1 g/l
5.	Глюкоза	mmol/l	6 % 0,33 mmol/l	10 % 0,55 mmol/l	22 % 1,22 mmol/l	> 5,5 mmol/l < 5,5 mmol/l
6.	Пикочна киселина	μmol/l	7 %	12 %	26 %	
7.	Урея	mmol/l	7 %	12 %	26 %	
8.	Калий	mmol/l	5 %	7 %	17 %	
9.	Креатинин	μmol/l	7 %	10 %	24 %	
10.	Магнезий	mmol/l	6 % 0,06 mmol/l	8 % 0,08 mmol/l	20 % 0,2 mmol/l	> 1 mmol/l < 1 mmol/l
11.	Натрий	mmol/l	3 % 2,4 mmol/l	5 % 4 mmol/l	11 % 8,8 mmol/l	> 80 mmol/l < 80 mmol/l
12.	Фосфат (неорганичен)	mmol/l	6 %	6 %	18 %	

Таблица 2г

Изследване на пълна кръв

№ по ред	Показател	Мерна единица	Максимално допустима невъзпроизводимост (CV)	Максимално допустимо процентно отклонение на средна аритметична (n=10) от „прицелната стойност“ (d %)	Максимално допустимо процентно отклонение от „съгласувана стойност“ (НСВОК)	Област на измерване
1.	pH и кръвни газове	-log mol	0,02	0,02	0,06	
1а.	pH					
1б.	pO ₂	kPa	4 %	4 %	12 %	> 100 mm Hg < 100 mm Hg
1в.	pCO ₂	kPa	4 %	4 %	12 %	
2.	Йонизиран калций	mmol/l	5 % 0,05 mmol/l	5 % 0,05 mmol/l	15 % 0,15 mmol/l	> 1 mmol/l < 1 mmol/l
3.	Еритроцити	10 ¹² /l	3 %	4 %	10 %	
4.	Глюкоза	mmol/l	4 %	7 %	15 %	> 3,33 mmol/l

		0,13 mmol/l	0,23 mmol/l	0,50 mmol/l	< 3,33 mmol/l
5.	Хематокрит	3 %	3 %	9 %	
6.	Хемоглобин g/l	2 %	2 %	6 %	
7.	Хемоглобин A1 %	7 %	7 %	21 %	
8.	Хемоглобин A1c %	6 %	12 %	24 %	
9.	Левкоцити $10^9/l$	6 %	6 %	18 %	
10.	Тромбоцити $10^9/l$	7 % 2,8. $10^9/l$	7 % 2,8. $10^9/l$	$10^9/l$ $10^9/l$	>40. $10^9/l$ <40. $10^9/l$