

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I TIRANËS
FAKULTETI I SHKENCAVE TË NATYRËS
DEPARTAMENTI I KIMISË

Disertacion

Paraqitur nga:

MSc.Kimi. Blerta DAKLI (KËRÇIKU)

Për gradën shkencore:

DOKTOR I SHKENCAVE

Specialiteti: **Elektrokimi e zbatuar dhe dukuritë sipërfaqësore**

Tema: Studimi i metodave analitike për përcaktimin e elektrolitëve në lëngjet biologjike

Udhëheqës Shkencor: Prof. Dr. Marita NAKE

Mbrohet më dt. _____ para Jurisë:

1. _____ Kryetar
2. _____ (Oponent)
3. _____ (Oponent)
4. _____ Anëtar
5. _____ Anëtar

Tiranë, 2013

PASQYRA E LËNDËS

Falenderime.....	7
Parathënie.....	8
Hyrje.....	9
Qëllimi i studimit.....	10

PJESA TEORIKE

KAPITULLI I: ELEKTROLITËT

I. ELEKTROLITËT NË ORGANIZMIN E NJERIUT, ROLI I TYRE NË BIOKIMINË KLINIKE DHE MJEKËSI 11

1.1. Natriumi	11
1.2. Kaliumi	15
1.3. Kalciumi	18
1.4. Kloruret	22
1.5. Fosfori	24
1.6. Magnezi	26

II. MATERIALI BIOLOGJIK PËR PËRCAKTIMIN E ELEKTROLITËVE ...28

2.1. Serumi i gjakut.....	29
2.2. Plazma e gjakut.....	29

KAPITULLI II: APLIKIME TË ANALIZËS INSTRUMENTALE NË BIOKIMINË ANALITIKE MJEKËSORE.....31

2.1. Ligji i Lambert-Beer dhe metodat fotometrike në biokiminë mjekësore	35
2.1.1 Ligji i Lambert-Beer në formën e aplikimit të tij në biokiminë mjekësore....	37
2.2. Zgjedhja e gjatësisë së valës për matje fotometrike.....	38
2.3. Ndërtimi principal i një fotometri	39
2.4. Metoda e absorbimit atomik ose spektrofotometria e absorbimit atomik, AAS..	40
2.4.1 Pjesët përbërëse të spektrofotometrit me absorbim atomik.....	41
2.5. Fluorometria.....	43
2.6. Fotometria e flakës.....	44
2.7. Metoda me elektroda jono-selektive.....	45

KAPITULLI III: KRONOLOGJIA E METODAVE PËR MATJEN E ELEKTROLITËVE NË LËNGJET BIOLOGJIKE 47

3.1. METODAT E PËRCAKTIMIT TË NATRIUMIT	47
3.1.1 Metodave me piroantimoniat.....	47
3.1.2 Metoda, që bazohen në teknikën e precipitimit, me metoksilfenilacetat.....	47
3.1.3 Metodave kolorimetrike.....	47
3.1.4 Metodave të analizës spektrale me rrezatim apo fotometria me flakë	48

3.1.5 Metoda e spektrofotometrisë së absorbimit atomik	48
3.1.6 Metoda me elektroda jono-selektive	48
3.2. METODAT E PËRCAKTIMIT TË KALIUMIT	49
3.2.1 Metoda turbidimetrike e analizës	49
3.2.2 Metoda e fotometrisë me flakë	49
3.2.3 Metoda me elektroda jono-selektive	49
3.2.4 Metoda e spektrofotometrisë me absorbim atomik	49
3.3. METODAT E PËRCAKTIMIT TË KALCIUMIT	49
3.3.1 Metoda e precipitimit	49
3.3.2 Metoda analitike me fluoreshencë	50
3.3.3 Metodat kolorimetrike për matjen e kaliumit në lëngjet biologjike	50
3.3.4 Metodat e spektrofotometrisë me absorbim atomik	51
3.3.5 Metoda me elektrodë jono-selektive	51
3.4. METODAT E PËRCAKTIMIT TË KLORIT	51
3.4.1 Metoda titrimetrike për përcaktimin e klorureve	51
3.4.2 Metoda kolorimetrike	52
3.4.3 Metodat e titrimetrik-kulometrik-amperometrik	52
3.4.4 Metoda me elektroda jono-selektive	53
3.5. METODAT E PËRCAKTIMIT TË FOSFATEVE	53
3.6. METODAT E PËRCAKTIMIT TË MAGNEZIT	54
3.6.1 Metodat e spektrofotometrisë me absorbim atomik	54
3.6.2 Metodat kolorimetrike për matjen e magnezit në lëngjet biologjike	54
3.6.2.1 Metoda kolorimetrike me reagentin xylidyl blu	54
3.6.2.2 Metoda kolorimetrike me calmagit	54
PJESA EKSPERIMENTALE	55
KAPITULLI I: PËRZGJEDHJA E METODAVE FOTOMETRIKE PËR PËRCAKTIMIN E ELEKTROLITËVE NË LËNGJET BIOLOGJIKE, NË KUSHTET E LABORATORËVE TANË	
1. KALIUMI	55
1.1. Studimi i metodës fotometrike, për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike	55
1.1.1 Parimi i metodës	55
1.1.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur	55
1.1.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit	56
1.1.4 Përgatitja e reagentit të punës	56
1.1.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë	56
1.1.6 Metodika analitike	56
1.1.7 Llogaritja e rezultatit të analizës	56
1.1.8 Vlerat normale të kitit analitik	56

1.2. Studimi eksperimental i metodës me natrium tetrafenilborat, për përcaktimin e kaliumit, në kushtet e laboratorëve tanë	57
1.3. Studimi i kufirit të linearitetit për metodën turbidimetrike me natrium tetrafenilborat e vlefshme për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike	60
1.4. Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm	62
1.5. Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e kaliumit me metodë fotometrike turbidimetrike dhe elektrodë jono-selektive.....	63
2. KALCIUMI.....	67
2.1. Studimi i metodave fotometrike për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike	67
2.2. Metoda kolorimetrike me o-kresolftaleinë për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike.....	67
2.2.1 Parimi i metodës	67
2.2.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur.....	67
2.2.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit.....	68
2.2.4 Përgatitja e reagentit të punës.....	68
2.2.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë	68
2.2.6 Metodika analitike	68
2.2.7 Llogaritja e rezultatit të analizës	69
2.2.8 Vlerat normale të kitit analitik.....	69
2.3. Përcaktimi i kaliumit në lëngjet biologjike me metodën kolorimetrike me reagentin kromogjen metilblutimol (MTB)	70
2.3.1 Parimi i metodës	70
2.3.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur.....	70
2.3.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit	70
2.3.4 Përgatitja e reagentit të punës	70
2.3.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë	71
2.3.6 Metoda analitike	71
2.3.7 Vlerat normale të kitit analitik.....	71
2.4. Krahasimi i metodës me o- krezolftaleinë dhe metodës me metiltimolblu, për përcaktimin e kaliumit në serum të gjakut, në kushtet e laboratorëve tanë ...	72
2.5. Studimi i kufirit të linearitetit për metodat kolorimetrike të përcaktimit të kaliumit me OCPC dhe MTB.....	75
2.6. Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm	77
2.7. Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e kaliumit me metodë kolorimetrike me OCPC si dhe me ISE	78
3. KLORI	82
3.1. Studimi i metodës kolorimetrike për përcaktimin e klorit në lëngjet biologjike	82

3.1.1 Parimi i metodës	82
3.1.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur	82
3.1.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit.....	83
3.1.4 Materiali biologjik i përdorur për analizë.....	83
3.1.5 Metoda analitike	83
3.1.6 Llogaritja e rezultatit të analizës	83
3.1.7 Vlerat normale të kitit analitik.....	84
3.2. Studimi eksperimental i metodës kolorimetrike me tiocianat mërkuri, për përcaktimin e klorureve, në kushtet e laboratorëve tanë	84
3.3. Studimi i kufirit të linearitetit për metodën e përcaktimit të klorureve me tiocianat mërkuri e vlefshme për përcaktimin e klorit në lëngjet biologjike	87
3.4. Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm	89
3.5. Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e klorureve me metodën kolorimetrike dhe me elektrodë jono-selektive	90
4. MAGNEZI	94
4.1. Studimi i metodës kolorimetrike (me reagentin Xylidyl Blu) për përcaktimin e magnezit në lëngjet biologjike	94
4.1.1 Parimi i metodës	94
4.1.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur	94
4.1.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit.....	95
4.1.4 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë	95
4.1.5 Metoda analitike	95
4.1.6 Llogaritja e rezultatit të analizës	95
4.1.7 Vlerat normale të kitit analitik.....	96
4.2. Studimi i metodës kolorimetrike (me reagentin calmagit) për përcaktimin e magnezit në lëngjet biologjike	96
4.2.1 Parimi i metodës	96
4.2.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur	97
4.2.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit.....	97
4.2.4 Përgatitja e reagentit të punës.....	97
4.2.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë	97
4.2.6 Metoda analitike	97
4.2.7 Llogaritja e rezultatit të analizës	98
4.2.8 Vlerat normale të kitit analitik.....	98
4.3. Studimi eksperimental i metodës me reagentin xylidyl blu dhe metodës me reagentin calmagit, për përcaktimin e magnezit në serumit e gjakut, në kushtet e laboratorëve tanë	99
4.4. Studimi i kufirit të linearitetit	101
4.5. Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm	104

4.6. Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e magnezit me metodën kolorimetrike me reagentin calmagit dhe me metodën me reagentin Xylidyl Blu.....	105
KAPITULLI II: KRAHASIMI I ELEKTROLITMETRIT SINO 005 ME ELEKTROLITMETRIN EASY LYTE	110
KAPITULLI III: PËRCAKTIMI I VLERAVE NORMALE TË ELEKTROLITËVE KRYESORË, NË KUSHTET KONKRETE TË LABORATORËVE TANË	114
3.1 Përcaktimi i vlerave normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve të popullatës së shëndoshë në rrethin e Elbasanit	114
3.1.1 Mbledhja e mostrave analitike.....	115
3.1.2 Përcaktimi i kalciumit me metodën kolorimetrike me o-cresolftaleinë	115
3.1.3 Përcaktimi i magnezit me metodë kolorimetrike me xylidyl blu	117
3.1.4 Rezultati i studimit për nivelet normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve	119
3.2. Përcaktimi i vlerave normale të elektrolitëve në serumit e popullatës së qytetit të Tiranës.....	121
3.2.1 Metoda analitike dhe aparati matës i përzgjedhur për të realizuar matjen e analizave.....	121
3.2.2 Përzgjedhja e materialit biologjik, për të përcaktuar intervalin e vlerave normale të elektrolitëve	122
3.2.3 Rezultatet e studimit.....	123
REKOMANDIME	129
LITERATURA.....	130
PËRMBLEDHJE	134
ABSTRACT.....	134

FALENDERIME

Përfitoj nga rasti, të shpreh mirënjohjen dhe konsideratën time më të lartë, për të gjithë personat, me të cilët kam bashkëpunuar në këtë punim:

Udhëheqësen e disertacionit Prof. Dr. Marita Nake, e cila më ka dhënë mbështetjen e saj të plotë, për realizimin me sukses të këtij punimi.

Dr.Sh. Stelijan Buzo, i cili më ka dhënë ndihmën e tij të pakursyer, jo vetëm nëpërmjet njohurive të tij në këtë fushë, por edhe duke vënë në dispozicion laboratorin e tij, pa të cilin nuk do të ishte bërë i mundur, realizimi i këtij punimi.

Prof.Dr. Pranvera Laze, e cila më ka ndihmuar të realizoj përpunimin statistikor, duke përdorur programe statistikore bashkëkohore.

Stafin e Departamentit të Kimisë, të cilët krijuan mundësinë për kualifikimin shkencor, duke ndjekur me vëmendje ecurinë e punës, deri në mbrojtjen e doktoratës.

Së fundi, falenderoj familjen time, veçanërisht bashkëshortin tim, për mbështetjen dhe për kurajën që më kanë dhënë, për kapërcimin e vështirësive dhe përmbushjen e këtij qëllimi.

PARATHËNIE

Elektrolitët paraqesin një rëndësi të madhe, për mjekësinë në përgjithësi dhe terapinë intensive dhe reanimacionin në veçanti.

Në vendin tonë, elektrolitët kanë filluar të maten pas vitit 1970, me metoda bashkëkohore për biokiminë mjekësore. Një ekip i laboratorit Biokimik Qëndror i asaj kohe, i përbërë nga Prof.Klement Shteto, Prof Enis Boletini, Prof Siri Leskoviku, me ndihmën teknike të Prof.Kosta Koçit aplikoi fotometrinë me flakë (metodë bashkëkohore në ato vite), për matjen e elektrolitëve në lëngjet biologjike.

Në fillim të viteve 90 një ekip i përbërë nga Dr.Sh.Stelijan Buzo, Prof Arben Markoçi dhe Prof Besnik Bare, përgatiti kushtet për përdorimin e elektrodave jono-selektive, në përcaktimin e elektrolitëve, në lëngjet biologjike.

Zhvillimi i kardiokirurgjisë në vendin tonë, bëri që një sektor i veçantë, për matjen e elektrolitëve në lëngjet biologjike, të atashohej pranë Laboratorit Biokimik Qëndror. Krahas punës rutinë, ky sektor i pajisur me teknologjinë moderne për kohën (fotometra me flakë, absorber atomik, pajisje me elektroda jono-selektive të firmës Radiometër Copenhagen) realizoi dhe mjaft punime shkencore, disa nga të cilat u botuan dhe në shtypin ndërkombëtar.

Aktualisht, ata pak laboratorë në vendin tonë, që vazhdojnë të masin elektrolitët në lëngjet biologjike, përdorin elektrolitmetra me elektroda jono-selektive dhe kite analitikë të tipit End- Point, të aplikuar në fotometra të programueshëm.

Nuk ka një protokoll të plotë për matjen e elektrolitëve dhe zakonisht laboratorët e vegjël, bëjnë zgjedhjen e metodës, sipas mendimit të tyre.

Në punimin tonë, me modesti dëshirojmë të japim një kontribut për standartizimin e metodave, për matjen e elektrolitëve, në kushtet e laboratorëve mjekësorë të vendit tonë.

HYRJE

Elektrolitët janë të rëndësishëm për rregullimin e disa proceseve thelbësore në organizëm, ndër të cilët më të rëndësishëm janë:

- Rregullimi i bilancit të ujit dhe shpërndarjes së tij në organizëm;
- Rregullimin e ekuilibrit osmotik;
- Rregullimin e ekuilibrit acido-bazik nëpërmjet menaxhimit të bikarbonateve plazmatike;
- Rregullimin e potencialit elektrik të membranave qelizore;
- Ndikimi në veprimtarinë neuromuskulare (DuBose, 2008; Brommer & Coburn, 1981);

Përqëndrimi i elektrolitëve luan një rol të rëndësishëm, jo vetëm në ruajtjen e presionit osmotik, por dhe në spostimet e ujit në kompartmentet e ndryshme të organizmit.

Të gjitha këto e bëjnë përcaktimin e elektrolitëve shumë të rëndësishëm në shkencat biologjike dhe ato mjekësore (Kolpepaj & Buzo, 2007; Buzo, 1993; Osmond, 1987; Zilva & Pannall, 1979).

Elektrolitët janë shumë të rëndësishëm për mjekësinë, sidomos për terapinë intensive dhe reanimacionin. Fusha e përdorimit të tyre në mjekësi, përfshin si shërbimin ambulator ashtu dhe atë spitalor.

Matja e elektrolitëve është e nevojshme për:

- Diagnostifikimin, mjekimin dhe monitorimin e patologjisë së osteoporozës;
- Kontrollin e terapisë me diuretike gjatë përdorimit të tyre në patologjitë kardiale, renale, etj;
- Rregullimin e balancit elektrolitik në të gjitha patologjitë, që shoqërohen me çrregullime të këtij balanci;

Në patologjitë, që shoqërohen me të vjella dhe diarre masive, matja e elektrolitëve është absolutisht një domosdoshmëri (Bonardi et al., 1999; Buzo, 1993; Kolpepaj & Buzo, 2007; Fawcett et al., 1999).

QËLLIMI I STUDIMIT

Studimi i metodave analitike, për përcaktimin e elektrolitëve në lëngjet biologjike, me qëllim vendosjen e protokolleve të sakta, për matjen e tyre, në kushtet e laboratorëve të vendit tonë.

Objektiva të rëndësishme të studimit janë:

- Të studiojë në mënyrë të plotë, metodat analitike, që përdoren në biokiminë mjekësore (klinike), për përcaktimin e elektrolitëve, në lëngjet biologjike.
- Të përzgjedhë metodat më të përshtatshme fotometrike, për përcaktimin e elektrolitëve në lëngjet biologjike, në kushtet e laboratorëve tanë.
- Të studiojë në mënyrë të plotë metodat e përzgjedhura fotometrike dhe t'i krahasojë ato me metodat etalon.
- Të krahasojë elektrolitmetrat sistem i mbyllur (cartridge system), me elektrolitmetrat sistem i hapur, për sa i përket saktësisë dhe përsëritshmërisë.
- Në përputhje me rekomandimin e Federatës Botërore të Kimisë Klinike (IFCC), të përcaktojë intervalet e vlerave normale të elektrolitëve, në kushtet e laboratorëve tanë.
- Të përcaktojë korrelacionet e mundshme në matjet e elektrolitëve, në lëngjet biologjike.

Shpresojmë, që ky studim të japë një kontribut modest, për standartizimin e metodave, për matjen e elektrolitëve, në kushtet e laboratorëve mjekësorë të vendit tonë dhe të shërbejë si referencë, për studime të ngjashme në Shqipëri.

PJESA TEORIKE

Kapitulli I

1. ELEKTROLITËT NË ORGANIZMIN E NJERIUT, ROLI I TYRE NË BIODIMINË KLINIKE DHE MJEKËSI.

1.1 Natriumi

Natriumi është elektroliti (kationi) kryesor i mjedisit jashtëqelizor. Në organizëm gjenden afërsisht 4,000 mmol natrium. Natriumi, që ndodhet në organizëm është i shpërndarë:

- Në lëngjet jashtëqelizore, të cilët përmbajnë 45 % të sasisë së përgjithshme të natriumit ose rreth 1,800 mmol;
- Në hapësirat ujore brendaqelizore, të cilat përmbajnë afërsisht 10% të sasisë së përgjithshme të natriumit ose rreth 400 mmol/l;
- Pjesa tjetër e mbetur e natriumit ose 45 % (1,800 mmol/l) ndodhet në indin kockor, në trajtën e lidhjeve kimike dhe nuk ndikohet nga ndryshimet normale të metabolizmit;

Organizmi i njeriut me anë të ushqimit, merr nga mjedisi i jashtëm 4-6 gr natrium në ditë, në trajtën e klorurit të natriumit NaCl. Pas disocimit të tij në jone Na^+ dhe jone Cl^- , jonet e natriumit përthithen në traktin tretës (digjektiv). Përthithja ndodh pa ndonjë kontroll aktiv, me anë të një mekanizmi të ngjashëm me pompën natrium-kalium-ATP-azë.

Përmbajtja e natriumit në organizëm mbahet në nivele relativisht konstante me anë të rregullimit renal.

Në veshka me anë të mekanizmit të ripërthithjes së kationeve të natriumit Na^+ , në nivelin e tubujve renalë kontrollon dhe rregullohet përqëndrimi i natriumit në hapësirën ujore plazmatike.

Këto mekanizma bëjnë që përqëndrimi i natriumit në organizmin normal të luhetet nga 135-145 mmol/l (Bonardi et al., 1999; Kruse et al., 1984).

Megjithatë intervali i vlerave normale varet nga shumë faktorë dhe çdo laborator e nxjerr atë në përputhje me popullatën që mbulon dhe teknologjinë analitike që zotëron.

Mekanizmi rregullator dhe kontrollues më i rëndësishëm në eliminimin e natriumit është ai i veprimit të hormoneve mineralokortikoide dhe sidomos ai i aldosteronit.

Aldosteroni është një hormon, që ndikon fuqishëm me shkëmbimet natrium-kalium, nëpërmjet membranave qelizore, sidomos në nivelin qelizor të tubujve renalë.

Në pjesën distale të tubit renal, aldosteroni rrit ripërthithjen e joneve natrium, duke i shkëmbyer ato me jone kalium K^+ dhe hidrogjen H^+ .

Sekrecioni i hormonit aldosteron, nga pjesa kortikale e gjendrave mbiveshkore kontrollohet nga sistemi reninë-angiotenzinë. Në këtë sistem renina është e përbërë nga një enzimë proteolitike e sekretuar nga një bashkësi qelizash të lokalizuara në afërsi të glomerulave të veshkave (Osorio & Alon, 1997).

Qelizat e këtij sistemi janë shumë të ndjeshme ndaj uljes së volumit të gjakut qarkullues (volemisë) dhe i përgjigjen uljes së fluksit të gjakut duke çliruar në qarkullim sasi të konsiderueshme renine.

Renina vepron mbi një glikoproteinë, e cila është e pranishme në qarkullimin e gjakut. Kjo glikoproteinë, që quhet angiotenzinogjen shndërrohet në një dekaeptid, që quhet angiotenzina I. Në një etapë të dytë, angiotenzina I nën veprimin e një peptidaze kalon në formën e një oktapeptidi, që quhet angiotenzina II. Angiotenzina II zotëron vetitë e mëposhtme (Henry, 1991; Kolpepaj & Buzo, 2007).

- Vepron mbi paretet vazale, duke shkaktuar ngushtim të enëve të gjakut (vazokonstrukcion), duke kontribuar si një faktor i rëndësishëm në mbajtjen dhe rregullimin e presionit të gjakut;
- Nxit sekretimin e mëtejshëm të aldosteronit nga pjesa kortikale e gjendrave mbiveshkore duke shkaktuar një mbajtje (retension) të natriumit në gjak. Kjo gjë sjell një mbajtje të tepërt të ujit, duke rritur hapësirën ujore plazmatike qarkulluese, pra presionin e gjakut;

Si përfundim, volumi plazmatik nëpërmjet çlirimit të reninës e më pas të aldosteronit kontrollojnë mbajtjen e natriumit në organizëm.

Hormoni aldosteron është faktori më i rëndësishëm, që vepron në ekskretimin e natriumit.

Faktorët e tjerë veprojnë në pjesën proksimale të tubujve renalë. Një nga këta faktorë, që duhet marrë në konsideratë është shpejtësia e filtrimit glomerular (VFG).

Një filtracion glomerular shumë i ulët ul ekskretimin e natriumit, ndërsa një shpejtësi e filtrimit glomerular (VFG) shumë e lartë, rrit ekskretimin renal të joneve të natriumit.

Ndryshimi i fluksit të gjakut në veshka dhe ndryshimet e presionit osmotik plazmatik, në vazat e gjakut të tubujve renalë, përcaktojnë ndryshimet në ripërthithjen e natriumit.

Ulja e përqëndrimit të natriumit në gjak nën 135 mmol/l, emërtohet si gjendje hiponatremie. Në rast se vlerat plazmatike të natriumit arrijnë 120 mmol/l është e nevojshme terapia intensive.

Shkaqet kryesore të hiponatremisë janë:

- a. Retensioni i shtuar i ujit ose retensioni i shtuar i përbashkët i ujit dhe natriumit me dominim të retensionit të ujit. Kjo çon në një zgjerim të hapësirës ujore plazmatike dhe ulje të përqëndrimit relativ të natriumit;

Kjo ndodh për këto arsye:

- Pamjaftueshmërisë së ekskretimit të ujit si rrjedhojë e dëmtimeve të rënda të veshkave;
 - Çrregullimeve në sekretimin e hormonit antidiuretik (ADH), si psh në traumat kraniale;
 - Mbingarkesave hidrike gjatë marrjes së tepërt të tretësirave me glukozë;
- b.** Humbja e ujit dhe e natriumit me predominim të humbjeve të natriumit. Patologjitë më të shpeshta ku vihet në dukje dukuria e mësipërme janë:
- Humbje gastro-intestinale, diarrea, drenimi i fistulave;
 - Pamjaftueshmëria kortikosteroide (ulja e sekretimit të Aldosteronit);
 - Djersitja profuze, hipertermia;
- c.** Migrimi i joneve natrium në brendësi të qelizave. Kjo dukuri vihet re në:
- Sëmundjet debilante;
 - Në çrregullimet e metabolizmit të kaliumi (Brommer & Coburn, 1981);

Rritja e përqëndrimit të natriumit në gjak mbi 145 mmol/l, shkakton hipernatreminë.

Shkaqet kryesore të hipernatremisë janë:

- a.** Humbjet e theksuara të ujit, që çojnë në ngushtim të hapësirës ujore plazmatike dhe rritje relative të përqëndrimit të natriumit në gjak.

Patologjitë më të shpeshta që shkaktojnë hipernatreminë me mekanizmin e mësipërm janë:

- Rritja e eliminimit të ujit, nëpërmjet lëkurës dhe pulmoneve (djersitje e vazhdueshme, hiperventilim, ethe, etj);
 - Poliuri hipotonike karakteristike e diabetit insipid primitiv apo nefrogjenik;
 - Poliuri osmotike (diabet i dekompenzuar, nefritet kronike, morbus Addison);
- b.** Marrjet e pamjaftueshme të ujit:
- Etja e zgjatur si rrjedhojë e mungesës së ujit të pijshëm (aksidentet detare, qëndrimet e zgjatura në shkretëtirë, etj);
 - Vështirësia në marrjen e ujit me rrugë orale sidomos në lezionet cerebrale, koma, dëmtimet e ezofagut;
- c.** Mbingarkesa me natrium që mund të shkaktohet nga:
- Dietë e pasur me klorur natriumi;
 - Përdorimi i shtuar gjatë terapisë i tretësirave hipertoniqe;

- Retensioni i shtuar i natriumit si rrjedhojë e mbidozimit me hormone që shkaktojnë retension të natriumit ose në hiperaldosteronizëm (Cirillo et al., 1994);

Natriumi në urinë

Vlerat normale të natriumit në urinë janë 50-200 mmol/24h. Matja e sasisë së natriumit në urinë kërkohet në ato raste, kur duhet që të përcaktohen çrregullimet e ujit dhe të elektrolitëve, në veçanti të natriumit, si dhe në monitorimin e terapisë, që përdoret në këto raste.

Natriumi është kationi kryesor ekstraqelizor. Matja e sasisë së natriumit të eliminuar me anë të urinës kërkohet për të përcaktuar ata pacientë, që kanë volum të ulur, sëmundje renale, sëmundje adrenale dhe një çrregullim të ekuilibrit acido-bazik.

Ky test është mjaft i kërkuar në rastet kur niveli plazmatik i natriumit është i ulur. Psh. në pacientët me hiponatremi të shkaktuar nga marrja e pamjaftueshme e natriumit, niveli i natriumit në urinë është i ulur. Në pacientët me hiponatremi të shkaktuar nga insuficienca renale kronike ose sëmundja Addison, sasia e natriumit të eliminuar me anë të urinës do të jetë e lartë.

Shumë faktorë marrin pjesë në rregullimin e bilancit të natriumit. Aldosteroni shkakton mbajtjen e natriumit në organizëm, nëpërmjet stimulimit renal të absorbimit të natriumit, duke çuar në një ulje të sasisë së natriumit të eliminuar me anë të urinës.

Hormoni natriuretik, ose faktori i katërt, kur nxitet shkakton rritje të eliminimit urinar të natriumit, nëpërmjet uljes së absorbimit renal të natriumit dhe të rritjes së eliminimit urinar të tij me anë të veshkave. Hormoni antidiuretik (ADH), i cili kontrollon reabsorbimin e ujit në tubulin distal të veshkave, ndikon në nivelin e natriumit në urinë nëpërmjet hollimit ose koncentrimit të urinës (kur mungon ky hormon sasia e ujit të eliminuar me urinë do të jetë e madhe, pra urina është shumë e holluar, ndërkohë sasia e natriumit në urinë do të jetë e vogël, në të kundërt, në prani të këtij hormoni do të eliminohet pak ujë me anë të veshkave, pra urina është më e koncentruar, rrjedhimisht sasia e natriumit është më e lartë); (Cirillo et al., 1994; Kaplan & Pesce, 1991).

Faktorët që interferojnë në matjen e natriumit në urinë

- Marrja pa kriter e kripës me anë të dietës;
- Medikamente, që mund të rrisin nivelin urinar të natriumit, që përfshijnë antibiotikët, kafeina, laksativët dhe diuretikët (psh spironolaktoni);
- Medikamentet, që mund të shkaktojnë ulje të nivelit urinar të natriumit, përfshirë steroidet;

Rritje të përqendrimit urinar të natriumit takohet në këto situata klinike:

- Gjendjet e dehidrimit. Uji i lirë është reabsorbuar në mënyrë aktive nga veshkat, ndërkohë që sasia e natriumit në urinë është e rritur;
- Insuficiencën adrenokortikale. Aldosteroni dhe kortikosteroidet nxisin reabsorbimin e natriumit në tubulin distal. Në mungesë të këtyre hormoneve,

natriumi nuk do të reabsorbohet dhe sasi të konsiderueshme të tij do të eliminohen me anë të urinës;

- Sindroma e sekretimit të pamjaftueshëm të ADH (SIADH). ADH nxit reabsorbimin e ujit të lirë nga veshkat. Në rastin kur kemi një sekretim të pamjaftueshëm të këtij hormoni, sasia e ujit të lirë në urinë është e pakësuar, si rezultat natriumi është shumë i përqëndruar;
- Ketoacidoza diabetike. Diureza osmotike e shkaktuar nga hiperglicemia tenton të pakësojë reabsorbimin e natriumit nga veshkat. Më vonë krija sodike bashkëvepron me disa produkte ketonike, duke rritur në këtë mënyrë sasinë e natriumit të eliminuar me anë të urinës;
- Insuficienca renale kronike. Reabsorbimi renal i natriumit dhe produkteve të tjera është i pakësuar në sëmundjet renale. Në këto sëmundje niveli urinar i natriumit është i rritur (Rose, 1984; Winter, 1981);

Ulje të përqëndrimit urinar të natriumit takohet në këto situata:

- Insuficiencën kardiake kongjestive. Në këtë sëmundje kemi të reduktuar volumin qarkullues të gjakut, që vjen nga zemra për në veshka, si rezultat do të kemi aktivizim të sistemit renine angiotenzinë-aldosteron. Aldosteroni do të veprojë mbi tubujt renal duke nxitur reabsorbimin e ujit dhe të natriumit duke pakësuar në këtë mënyrë nivelin urinar të natriumit;
- Malabsorbimi;
- Diarrea. Në këtë rast është ulur absorbimi intestinal i natriumit, për pasojë do të kemi një përgjigje fiziologjike, e cila tenton të minimizojë humbjet renale të natriumit;
- Sëmundja Cushing. Kortikosteroidet kanë efekte të ngjashme me aldosteronin, duke nxitur në veshka reabsorbimin e natriumit dhe pakësimin e eliminimit urinar të tij (Bonardi et al., 1999);

1.2. Kaliumi

Kaliumi është kationi më thelbësor i lëngjeve brendaqelizore. Mesatarisht përqëndrimi i kaliumit brenda mjedisit qelizor është 140 mmol/l, ndërsa në mjedisin jashtëqelizor, ky përqëndrim është rreth 4 mmol/l.

Përqëndrimi brendaqelizor i kaliumit ndryshon dukshëm në funksion të aktivitetit të tij metabolik.

Rezervat e kaliumit në organizëm janë shumë më të vogla se sa ato të natriumit dhe mund të pësojnë ndryshime, që çojnë në patologji serioze (Fraser & Harris, 1989).

Në raport me osmolaritetin brendaqelizor roli i kaliumit nuk është i rëndësishëm. Kaliumi ushtron funksione të rëndësishme dhe metabolike, ku më të rëndësishmet janë:

- Aktivizimi i shumë proceseve enzimatishe;
- Rregullimi i ngacmueshmërisë së fibro qelizave, në përgjithësi dhe atyre të miokardit në veçanti;
- Përçimi i impulsit nervor;

Përmbajtja e kaliumit në organizëm është afërsisht 3,200 mmol/l. Me anë të ushqimit, organizmi merr 26 mmol kalium për 24 orëve.

Përqëndrimi plazmatik normal i kaliumit në përgjithësi është 3.5-5.3 mmol/l.

Si rrjedhojë e këtij përqëndrimi të ulët, kaliumi në ndryshim nga natriumi nuk ndikon në ekuilibrin e ujit.

Një mekanizëm tjetër i rëndësishëm, në zhvendosjen e kaliumit nëpërmjet membranave qelizore, është ai, që ka të bëjë me ekuilibrin acido-bazik.

Në gjendjet e acidozës ka një kalim të joneve hidrogjen H^+ nga mjedisi jashtë qelizor në mjedisin brenda qelizor.

Kjo dukuri mjaft e shpejtë (realizohet për 2-3 orë) shoqërohet me daljen nga qelizat në mjedisin jashtë qelizor, të një sasi ekuivalente të joneve të kaliumit (ligji i elektroneutralitetit).

Kjo dukuri mund të shkaktojë një hiperkaliemi në gjak edhe në ato raste, kur kemi humbje të kaliumit nga organizmi. Në gjendjet e alkalozës vihet në dukje e kundërta.

Eliminimi i kaliumit nga organizmi bëhet në nivelin renal. Kaliumi kalon në filtratin glomerular dhe pas këtij riabsorbohet pothuajse krejtësisht në pjesën proksimale të tubulit renal. Më tej kjo sasi kaliumi riekskretohet në tubujt distalë dhe shkëmbehet në tubujt kolektorë, me jonet e natriumit.

Me hipokalemi kuptojmë atë situatë klinike, në të cilën sasia e kaliumit plazmatik është nën kufirin e poshtëm të vlerave normale (Walmsley et al., 1999).

Shkaqet kryesore të hipokalemisë janë:

- Humbjet e kaliumit nga organizmi (të vjella, diarre, hipersekretim renal i kaliumit në hiperaldosteronizmin primitiv apo sekondar në sidromën Cushing, në terapinë me steroide, acidozën metabolike tubulare, sidromën Fanconi);
- Marrje e pamjaftueshme e kaliumit me anë të dietës (mosushqyerjet kronike);
- Rishpërndarje e kaliumit në organizëm, me kalim të kaliumit nga mjedisi jashtë qelizor në mjedisin brenda qelizor (terapia me insulinë dhe glukozë, paraliza periodike familjare);
- Humbjet e kaliumit nga lëngjet jashtë qelizore nëpërmjet rrugëve të ndryshme (kalim nga mjedisi jashtë qelizor në atë brenda qelizor, eliminimi me anë të veshkave, humbjet me rrugë intestinale);

Hipokalemia shoqërohet me mjaft simptoma klinike, nga të cilat më të rëndësishmet janë:

- Simptoma muskulore dhe nervore;
- Manifestim i tetanisë;
- Simptoma renale;
- Shenja elektrokardiografike psh, negativizim i valës T;

Me hiperkaliemi do të kuptojmë atë situatë klinike, në të cilën sasia e kaliumit plazmatik është mbi kufirin e sipërm të vlerave normale.

Shkaqet kryesore të hiperkalemisë janë:

- Marrja e tepërt e kaliumit gjatë korigjimit të alkalozës metabolike hiperkalemike me tretësira 10 % klorur kaliumi;
- Pamjaftueshmëria e ekskretimit renal të kaliumit (ulja e aktivitetit tubular të shkëmbimit natrium-kalium, hiperaldosteronizmi si në rastin e morbus Addison, pamjaftueshmëria glomerulare, humbjet e natriumit);
- Rishpërndarja e kaliumit në organizëm (lezione të rënda indore, anemi hemolitike, denutricion akut);
- Ulje e ekskretimit renal të kaliumit rrjedhojë e acidozave, anoreksisë, ketoacidazës diabetike me deficit të pompës natrium-kalium. Simptomat e hiperkalemisë manifestohen kryesisht në miokard me aritmi, rritje të valës T e elektrokardiogramës, shkurtrim të segmentit Q-T, bradikardi. Muskujt e skeletit paraqesin atoni muskulore deri në paralizë (Walmsley et al., 1999);

Kaliumi në urinë

Vlerat normale të kaliumit në urinë janë 30-90 mmol/24h. Këto vlera variojnë në mënyrë të theksuar me dietën.

Matja e kaliumit në urinë indikohet në ato raste, kur duam të matim eliminimin 24 orësh të tij me anë të veshkave, si dhe për të përcaktuar balancën elektrolitike.

Siç e dimë kaliumi është kationi kryesor me lokalizim brenda qelizor. Një analizë e urinës 24 orëshe (duke matur në të elektrolitët, në veçanti kaliumin) është një test i mjaftueshëm, për të përcaktuar sëmundje të ndryshme renale, çrregullimet e ekuilibrit acido-bazik dhe sëmundjet adrenale.

Niveli plazmatik i kaliumit varet nga disa faktorë. Aldosteroni dhe më pak glukokortikoidet, synojnë të rrisin humbjet renale të kaliumit. Nëse niveli plazmatik i natriumit është i ulur, në nivelin e tubujve renalë do të nxitet reabsorbimi i natriumit duke e shkëmbyer me kaliumin, duke rritur në këtë mënyrë humbjet renale të këtij të fundit.

Rritje të eliminimit urinar të kaliumit e ndeshim në situatat e mëposhtme klinike:

- Insuficiencën renale kronike. Në këtë sëmundje kemi humbje të rritura të natriumit, humbje këto që pasohen dhe nga humbje të rritura të kaliumit;
- Acidoza tubulare renale. Në këtë rast, si pasojë e reduktimit të ekskretimit renal të hidrogjenit, do të kemi rritje të ekskretimit urinar të kaliumit;
- Sindroma Cushing;
- Hiperaldosteronizmi. Aldosteroni rrit ekskretimin urinar të kaliumit. Meqenëse dhe glukokortikoidet kanë një efekt të ngjashëm aldosteronik dhe në sëmundjen Cushing do të kemi një rritje të eliminimit urinar të kaliumit;
- Alkalozia. Hidrogjeni reabsorbohet në nivelin e tubujve renal duke u shkëmbyer me kaliumin, i cili eliminohet me anë të urinës;
- Terapia me diuretikë. Shumica e diuretikëve kanë si funksion humbjet urinare të kaliumit;

Ulje të humbjeve urinare të kaliumit takohet në situatat e mëposhtme:

- Dehidrimi. Si pasojë e uljeve të qarkullimit të gjakut në veshka në këtë situatë, së bashku me dehidrimin do të pakësohet dhe ekskretimi urinar i kaliumit;
- Sëmundja Addison. Kjo sëmundje ka si shkak sekretimin e pamjaftueshëm të Aldosteronit, për pasojë dhe ajo sasi e pakët e këtij hormoni, që sekretohet është e paaftë që të nxisë në veshka ekskretimin e kaliumit, për pasojë do të kemi ulje të ekskretimit urinar të tij;
- Kequshqyerja;
- Të vjellat;
- Diarreja;
- Insuficienca renale akute. Në këtë sëmundje kemi një ulje të ekskretimit urinar të kaliumit dhe kjo është një ndër shkaqet më të shpeshta të hiperkalemisë;
- Marrjet e pakta të kaliumit me anë të dietës ushqimore (Kolpepaj & Buzo,2007; Bonardi et al., 1999);

1.3. Kalciumi

Kalciumi është substanca minerale më e rëndësishme për organizmin. Mesatarisht, një individ i rritur, përmban në organizëm rreth 1200 g kalcium.

Rreth 1 % e kësaj sasive kalciumi ndodhet në gjak, në hapësirën ujore plazmatike. Pjesa tjetër, rreth 99 % ndodhet e depozituar në indin kockor dhe gjendet në një ekuilibër dinamik me sasinë e kalciumit të pranishëm në hapësirën ujore plazmatike (Barnett et al., 1973).

Në plazmën e gjakut kalciumi ndodhet në tre forma të ndryshme nga këndvështrimi kimik:

- I lidhur me proteinat plazmatike, kryesisht me albuminat. Në këtë trajtë ndodhet mesatarisht 40-50% e sasisë së përgjithshme të kalciumit të pranishëm në plazmën e gjakut;
- Në gjendje të lirë jonike, Ca^{+2} . Pikërisht kjo sasi e kalciumit përfaqëson pjesën kimikisht aktive të kalciumit, të aftë që të ushtrojë veprime fiziologjike dhe të marrë pjesë në proceset biokimike. Përqëndrimi i joneve të lira të kalciumit, në plazmën e gjakut, në praktikën mjekësore quhet kalcium i jonizuar. Mesatarisht përqëndrimi i kalciumit të jonizuar, në plazmën e gjakut përfaqëson 40-45 % të sasisë së përgjithshme të kalciumit, që gjendet në plazmën e gjakut;

Ka një formulë, e cila lejon të llogaritet kalciumi i jonizuar në plazmën e gjakut, pasi është matur paralelisht kalciumi total dhe proteinat totale në serum in e gjakut:

$$Ca^{+2} \text{ mg/dl} = \frac{(Ca \text{ Total} \times 6) - \frac{Proteinat \text{ totale g/dl}}{3}}{Proteinat \text{ totale g/dl} + 6}$$

Aktualisht kalciumi i jonizuar matet me anë të elektrodës jono selektive të kalciumit (ISECa). Formula e mësipërme, mund të përdoret në ato raste, kur në laborator mungon teknologjia me elektroda jono-selektive.

- Në formën e komplekseve kimike me citratet, fosfatet. Në plazmën e gjakut, kalciumi i lidhur me citratet dhe fosfatet, përfaqëson 5-10 % të sasisë së përgjithshme të kalciumit, që gjendet në plazmën e gjakut;

Nga pikëpamja e kimisë fizike, kalciumi i jonizuar dhe ai i lidhur me citratet dhe fosfatet, konsiderohet si formë e difuzueshme.

Kalciumi i lidhur me proteinat, kryesisht me albuminat, konsiderohet si formë e padifuzueshme. Format e lartpërmendura të kalciumit në organizëm ndodhen në një gjendje ekuilibri dinamik. Ky ekuilibër është funksion i ndryshimeve të pH të gjakut.

Ndikim të rëndësishëm në këtë proces ka përqëndrimi i proteinave plazmatike si dhe përqëndrimi i substancave kelate të pranishme në qarkullimin e gjakut.

Lidhja e kalciumit me proteinat plazmatike është në varësi shumë të ngushtë me vlerat e pH të gjakut. Me rritjen e vlerave të pH të gjakut, shtohet aftësia e kalciumit, për t'u lidhur me proteinat plazmatike, duke çuar në një ulje të përqëndrimit të kalciumit të jonizuar, Ca^{+2} (Brommer & Coburn, 1981; Gindler & King, 1972; Robertson & Marshall, 1981; Baginski et al., 1973).

Homeostaza e kalciumit është në varësi të disa faktorëve, ku më të rëndësishmet janë:

- Aktiviteti i parathormonit (PTH) i prodhuar nga gjendrat paratiroide;
- Veprimi i vitaminës D, sidomos formës së saj aktive 1.25 dihidroksikolekalciferoli;
- Veprimi i hormonit tireokalcitoninë, i cili prodhohet nga gjëndra tiroide;

Nevojat ditore të organizmit të rritur për kalcium janë mesatarisht 700 mg. Në moshën e fëmijërisë, në gravidancë dhe në periudhën e laktacionit, nevojat ditore mesatare të kalciumit rriten deri në 1000-1500 mg.

Absorbimi i kalciumit të marrë me anë të ushqimit ndodh në traktin intestinal nën veprimin e 1.25 dihidroksikolekalciferolit (1-25 (OH)₂ kolekalciferoli është forma aktive e vitaminës D).

Ndikim të rëndësishëm në këtë dukuri ka dhe pH i lëngjeve të intestinit, nga marrja e fosfateve me anë të ushqimit, nga dieta dhe nga përthithja normale e yndyrave (lipideve). Skematikisht kjo dukuri mund të paraqitet si vijon:



Kalciumi eliminohet nga organizmi kryesisht me anë të materialeve fekale dhe rrugëve urinare.

Sipas literaturës vlerat normale të kalciumit janë:

Fëmijë

9- 11 mg/dl

2.25- 2.75 mmol/l

Të rritur

9- 10.7 mg/dl

2.25- 2.67 mmol/l

Jonet e kalciumit kanë një sërë funksionesh të rëndësishme për organizmin, ndër të cilat përmendim:

- Pjesëmarrja në procesin e koagulimit të gjakut dhe të rritjes qelizore, sidomos të osteoblasteve;
- Shërben si aktivizues i një sërë enzimash (kofaktor metalik) dhe ndërhyr në procesin e çlirimit hormonal dhe aktivatorëve të tjerë biologjikë;
- Merr pjesë në transmetimin e impulsit nervor;
- Pakëson përshkueshmërinë e kapilarëve të membranave qelizore, duke marrë pjesë aktive në kontrollin e mekanizmit të transportit membranor;
- Pakëson ngacmimin neuromuskular;

Kalciumi është një nga elektrolitet më të rëndësishëm të organizmit, me një interes të madh mjekësor.

Ulja e përqëndrimit të kalciumit nën kufirin e poshtëm të intervalit të vlerave normale, quhet hipokalcemi.

Patologjitë më të rëndësishme, që çojnë në hipokalcemi janë:

- Ulja e funksionit të gjendrës tiroide (Hipotiroidizmi);
- Ulja e funksionit të gjendrave paratiroide (Hipoparatiroidizmi);
- Rakitizmi;
- Osteomalacia;
- Operacionet në traktin intestinal;
- Malabsorbimi (keqpërthithja) e kalciumit në sëmundjet inflamatore dhe degjenerative;
- Në sëmundjet e pankreasit;
- Në cirrozat e mëlçisë;
- Pamjaftueshmëria kronike e veshkave;
- Deficitet në magnez;
- Karcinoma prostatike;
- Terapia e zgjatur me barna antikonvulsivantë;

N.q.s përqëndrimi i kalciumit në gjak, rritet mbi kufirin e sipërm të vlerave normale, organizmi vuan gjendjen e hiperkalcemisë.

Patologjitë më të rëndësishme, të cilat çojnë në hiperkalcemi janë:

- Rritja e funksionit të gjendrave paratiroide (Hiperparatiroidizmi);
- Osteoma (tumori i sistemit kockor);
- Mieloma MultipleX;
- Leucemia dhe limoma;
- Rritja e funksionit të gjendrës tiroide (Hipertiroidizmi);
- Frakturat e skeletit;

Kalciumi në urinë

Një rëndësi të madhe në praktikën mjekësore ka dhe përcaktimi i kalciomit në urinën e 24 orëve. Kalciumi në veshka filtrohet në glomerula dhe riabsorbohet në masën 98-99%, në pjesën proksimale të tubit renal, në ansën e Henle dhe në tubulin distal. Në absorbimin e kalciomit në tubulin distal luan rol të madh dhe parathormoni.

Sipas të dhënave të literaturës vlerat normale të kalciomit në urinën e 24 orëve, për njerëzit e shëndoshë janë:

- 100 - 300 mg/24 h
- 2.5 - 7.5 mmol/24h (Kruse et al.,1984).

Vlera të rritura të kalciomit në urinën e 24 orëve, takohen në këto patologji kryesore:

Rritje e absorbimit intestinal të kalciomit, dukuri kjo që shkaktohet nga këto patologji:

- Hipervitaminozë D (mbidozim me vitaminë D);
- Shtim i aktivitetit të gjendrave paratiroide;
- Sarkoidozë;
- Mungesë e joneve fosfat PO_4^{3-} në organizëm ;

Çlirim i rezervave të kalciomit nga osteoblastet (qelizat kockore), dukuri kjo që shkaktohet nga këto patologji:

- Sëmundja e Paget;
- Prodhimi i shtuar i parathormonit (PTH) nga gjendrat paratiroide;
- Shtimi i funksionit të gjendrës tiroide (tireotoksikoza);
- Akromegalia;
- Osteoporozë;
- Osteoliza (shkrirja e qelizave kockore osteoblasteve) e shkaktuar nga mieloma multipleks dhe metastazat kockore;
- Acidoza metabolike;
- Mungesë e joneve fosfat PO_4^{3-} në organizëm;

Dëmtimi i funksionit të veshkave

- Poliuria;
- Sindromi Bartter;
- Acidoza metabolike veshkore;
- Dieta e pasur me proteina;
- Rritje e përqendrimit të magnezit;

Po aq e rëndësishme nga këndvështrimi diagnostik është dhe hipokalciuria (ulja e përqendrimit të kalciomit në urinën e 24 orëve).

Patologjitë kryesore, që çojnë në hipokalciuri janë:

- Malabsorbimi (keqthithja intestinale);
- Pamjaftueshmëria veshkore kronike;
- Mungesa e vitaminës D;
- Pamjaftueshmëria mushkore (hiperkapnia);

- Obeziteti;
- Përdorimi i tepërt i diuretikëve (Kolpepaj & Buzo, 2007; Bonardi et al., 1999; Barnett et al., 1973; Buzo, 1993; Ladenson & Bowers, 1973; Lambrecht et al., 2007; Zilva & Pannall, 1979).

1.4. Kloruret

Kloruret Cl^- përfaqësojnë anionin kryesor të mjedisit jashtë qelizor. Mesatarisht përqëndrimi i klorureve në hapësirën ujore plazmatike ndryshon nga 98 mmol/l – 110 mmol/l.

Vetëm 30 % e klorureve Cl^- që përmbahen në organizëm, i takojnë mjedisit brenda qelizor. Përqëndrimi i klorureve brenda mjedisit qelizor ndryshon nga 1- 3 mmol/l.

Me anë të ushqimit organizmi merr rreth 50-250 mmol klorure për 24 h, në formën e klorurit të natriumit.

Eliminimi i klorureve nga organizmi bëhet me anë të:

- Veshkave, të cilat eliminojnë 150-250 mmol/24 h
- Djersës, e cila eliminon afërsisht 25 mmol/24 h (Rose, 1984)

Kloruret filtrohen nëpërmjet glomerulave dhe ripërthithen pothuajse krejtësisht në nivelin e tubujve proksimalë (së bashku me natriumin dhe kaliumin) dhe në tubujt distalë, ku vetëm natriumi ripërthithet i shoqëruar me një sasi ekuivalente kloruresh, ndërkohë që kaliumi dhe jonet hidrogjen ekskretohen.

Acidi klorhidrik HCl, një burim ky i joneve klor, gjendet në sasi të konsiderueshme në lëngun gastrit (150-250 mmol/l). Duke u disociuar acidi klorhidrik bëhet burim i joneve Cl^- . Acidi klorhidrik HCl, së bashku me enzimat gastrite, është thelbësor në procesin e digjestionit.

Kloruret kanë funksionin e aktivatorit në lidhje me mjaft enzima, ku më e rëndësishmja është amilaza.

Joni klor Cl^- shoqëron jonin natrium Na^+ në zhvendosjet e këtij të fundit nëpërmjet membranave qelizore. Kjo dukuri është e nevojshme për të ruajtur elektroneutralitetin e plazmës. Joni klor Cl^- luan një rol të rëndësishëm në hapësirën ujore plazmatike, për të mbajtur vlerat normale të presionit osmotik.

Spostimi i klorureve është i lidhur me përqëndrimet e joneve klor Cl^- në mjedisin jashtë qelizor dhe në atë brenda qelizor të eritrociteve. Ky spostim ndikon dukshëm në shkëmbimet eritrocitare të CO_2 dhe O_2 .

Gjatë çrregullimeve acido-bazike, kur ndryshon përqëndrimi i joneve bikarbonat HCO_3^- në lëngjet jashtë qelizore, do të ketë dhe një ndryshim ekuivalent të joneve Cl^- në sens të kundërt, për të ruajtur elektroneutralitetin.

Në acidozën metabolike ulja e përqëndrimit të bikarbonateve plazmatike, shoqërohet me rritje të përqëndrimit të joneve klor, ndërsa e kundërta në alkalozën metabolike (kemi rritje të bikarbonateve plazmatike dhe ulje të përqëndrimit të klorit).

Ndryshimet plazmatike në jonet klor Cl^- , shoqërohen me ndryshime në sens të kundërt të joneve bikarbonat në plazëm.

Sipas literaturës, vlerat normale të klorureve në plazëm janë 98-110 mmol/l.

N.q.s përqëndrimi plazmatik i klorureve rritet mbi 110 mmol/, organizmi vuan patologjinë e hiperkloruremisë.

Vlera të larta të klorureve, mbi ato 110 mmol/l takohen në këto patologji:

- Pamjaftueshmëria veshkore akute;
- Acidoza tubulare tipi I dhe tipi II;
- Terapia me acetozolamid;
- Acidoza metabolike;
- Alkalozia respiratore;
- Pamjaftueshmëria e funksionit të zemrës;
- Hiperkortikosurrenalizmi (mbifunksioni i gjendrave mbiveshkore);

Në ato raste, ku përqëndrimi plazmatik i klorureve, ulet nën 98 mmol/l, organizmi vuan gjendjen e hipokloruremisë.

Patologjitë më të shpeshta, ku takohet hipokloruremia janë:

- Të vjellat e vazhdueshme;
- Diarre;
- Acidoza respiratore;
- Alkalozia metabolike;
- Sëmundja e Addison;
- Mungesa e hormonit antidiuretik (ADH) (Buzo, 1993);

Klori në urinë

Rëndësi të madhe në praktikën mjekësore, ka dhe përcaktimi i klorureve në urinën e 24 orëve. Në njerëzit e shëndoshë, eliminimi i klorureve me urinën e 24 orëve, ndryshon nga 150 mmol/l në 250 mmol/l.

Matja e klorureve, së bashku me matjen e elektrolitëve të tjerë në urinë, është një test që përdoret për të kontrolluar balancin e elektrolitëve në organizëm si dhe çrregullimet e ekuilibrit acido-bazik.

Klori siç e dimë është një ndër anionet kryesore ekstraqelizore. Funksioni i tij kryesor është që të ruajë elektroneutralitetin qelizor, duke formuar shpesh kripërat e natriumit.

Psh, kur aldosteroni nxit reabsorbimin e natriumit, klori e ndjek pas reabsorbimin e natriumit për të ruajtur elektroneutralitetin. Meqenëse uji lëviz së bashku me natriumin dhe klorin, funksion tjetër i klorit përveç ruajtjes së elektroneutralitetit është dhe në rregullimin e balancit të ujit në organizëm. Funksion tjetër i klorit është dhe

pjesëmarrja si bufer në ekuilibrin acido-bazik. Kur dioksidi i karbonit (dhe kationet H) rriten në mjedisin intraqelizor, bikarbonatet do të kalojnë nga hapësira brendaqelizore në atë jashtë qelizore. Anionet e klorit për të ruajtur elektroneutralitetin, do të kthehen mbrapsht për në brendësi të qelizës.

Ekskretimi i klorureve me anë të rrugëve urinare ndjek atë të joneve të natriumit.

Përqëndrimi i joneve të klorit në urinën e 24 orëve, rritet në këto patologji:

- Marrja e tepërt e klorurit të natriumit NaCl;
- Shtim i urinimit (diurezë masive);
- Humbje e kaliumit;
- Hypofunksion i gjendrave mbiveshkore;

Përqëndrimi i ulët i joneve klor (Cl⁻) në urinën e 24 orëve, takohet në këto patologji:

- Marrja e kufizuar e klorurit të natriumit NaCl;
- Të vjella të vazhdueshme;
- Diarre të zgjatura;
- Djersitje e shtuar;
- Hiperfunksion i gjendrave mbiveshkore (Kolpepaj & Buzo, 2007; Bonardi et al., 1999);

1.5. Fosfori

Fosfatet në gjak ndodhen në dy forma:

- Fosfate inorganike;
- Estere organike të fosforit, kryesisht 2,3 difosfoglicerik acid, ATP (adenozin trifosfat), etj;

Pjesa inorganike në trajtë fosfatesh është me interes klinik. Fosfatet inorganike të serumit janë të lidhura ngushtë me metabolizmin e kockave (osteoblasteve), funksionin e veshkave, nivelet e vitaminës D dhe gjendjen e hormonit të paratiroides. Ndërsa fosfori si eter ose ester fosforik ka një sërë funksionesh, ndër më kryesoret përmendim: (Brommer & Coburn, 1981).

- Ndërhyn në disa etapa të metabolizmit glucidik;
- Luan një rol të rëndësishëm në grumbullimin, transferimin dhe çlirimit të energjisë (ATP, fosfokreatina, etj);
- Është një përbërës strukturor i nukleotideve, acideve nukleike;
- Merr pjesë në ndërtimin e fosfolipideve, duke luajtur një rol të rëndësishëm si në metabolizmin qelizor ashtu dhe si përbërës strukturor të membranave qelizore;

Hiperfosfatemia takohet në situatat e mëposhtme klinike: (Kaplan, 1995; Schmidt-Gayk, 2006)

- Hipervitaminozën D, në këtë rast do të ketë një rritje të absorbimit intestinal të kalciumit dhe të fosfateve;
- Hipoparatiroidizëm dhe në pseudohipoparatiroidizëm. Në këtë rast do të ketë një rritje të absorbimit tubular të fosfateve;
- Insuficiencën renale kronike, në të cilën do të ketë një retension të shtuar të fosfateve dhe lëndëve azotike. Kjo situatë takohet në gjendjet me acidozë metabolike, nefritet, renin polikistik, mielomën multiple, tuberkuloz, etj;
- Në frakturat kockore, kryesisht gjatë periudhës së shërimit të tyre;
- Një rritje modeste të fosfateve takohen dhe në hipertiroidizëm, në disa tumore kockore, leuçemi, sëmundjet hemolitike, marrjet me tepricë të qumështit;

Hipofosfatemia takohet në situatat e mëposhtme: (Kaplan, 1995; Schmidt-Gayk, 2006)

- Hiperparatiroidizëm, në të cilën do të ketë një rritje të ekskretimit urinar të fosfateve;
- Deficitet në vit D, rakitizëm dhe në osteomalaci;
- Steatorrenë idiopatike (morbus celiake, sprue, etj), si pasojë e uljes së absorbimit të kalciumit dhe të fosfateve;
- Acidozën tubulare renale. Në këtë situatë, renet nuk janë të afta që të acidifikojnë urinën si zakonisht. Midis defekteve tubulare renale, do të ketë dhe një ulje të riabsorbimit të kalciumit dhe të fosfateve, për pasojë hipofosfatemine dhe hiperfosfaturinë;
- Në sindromën Fanconi;

Sipas literaturës vlerat normale të fosforit janë:

Fëmijë

Të rritur

4 - 7 mg/dl

3 - 4.5 mg/dl

1.29 - 2.26 mmol/l

0.97 - 1.45 mmol/l

Sipas të dhënave të literaturës vlerat normale të fosforit në urinën e 24 orëve, për njerëzit e shëndoshë janë:

Fëmijë

Të rritur

16.4 - 27.1 mmol/24h

12.9 - 32.3 mmol/24h

500 - 800 mg/24h

400 - 1000 mg/24h

Fosfori në urinë

Fosfatet PO_4^{-3} të pranishme në plazmën e gjakut i nënshtrohen në nivelin e veshkave, një procesi të filtrimit glomerular dhe riabsorbimit tubular. Ky mekanizëm ndikohet nga parathormoni PTH. Një pjesë e fosfateve eliminohet me anë të urinës. Sasia e fosfateve të eliminuara nëpërmjet urinës, varet nga marrja e tyre me anë të ushqimit

dhe aktivitetit fizik. Vlerat normale të fosfateve në urinë variojnë në varësi të shumë faktorëve.

Vlera të larta të fosfateve në urinë, takohen në këto patologji:

- Dietë e pasur me fosfate;
- Osteolizë (shkrirje e osteoblasteve, qelizave kockore);
- Hiperparatiroidizëm;
- Acidozë;
- Diabeti i sheqerit;
- Mbidozim me vitaminë D;

Vlera të ulëta të fosfateve në urinën e 24 orëve takohen:

- Në shtatzani;
- Gjatë procesit të rritjes;
- Mungesë e vitaminës D;
- Hipoparatiroidizmit;
- Gjatë mjekimit të aciditetit të stomakut, me hidroksid alumini (Kolpepaj & Buzo, 2007; Bonardi et al., 1999; Schmidt-Gayk, 2006);

1.6. Magnezi

Magnezi është një element mineral i rëndësishëm, i organizmit. Ai bën pjesë në grupin e kationeve më të rëndësishëm të organizmit, të paraprirë nga: natriumi, kaliumi, kalciumi.

Në një individ të rritur përqëndrimi plazmatik i magnezit varion nga 1.7- 2.1 mg/dl (0.6- 1.15 mmol/l).

Afërsisht 55 % e sasisë së magnezit të organizmit ndodhet në skelet. Pjesa tjetër, afërsisht prej 45 % i takon mjedisit brenda qelizor. Magnezi dhe kaliumi janë dy kationet më të rëndësishme të organizmit. Vetëm 1% e magnezit të organizmit ndodhet në gjak. Në serumin e gjakut, afërsisht 55 % e magnezit ndodhet në trajtën e joneve të lira Mg^{2+} , 30 % është e lidhur me proteinat (kryesisht me albuminat) dhe 15 % formon komplekse me fosfatet (PO_4^{3-}), citratet dhe anione të tjera.

Ulja e magnezit në gjak shkaktohet nga humbjet me anë të veshkave, çrregullimet gastrointestinale dhe disa trajtime terapeutike. Mungesa e magnezit në organizëm shkakton hiperngacmim neuromuskular, çrregullime të ritmit kardiak, etj.

Hipermagnezemia shkaktohet në pamjaftueshmëri veshkore, në anemitë hemolitike, në terapinë e shtuar me antiacide, që përmbajnë magnezium. Një ndër shenjat klinike të hipermagnezemisë është depresioni neuromuskular.

Magnezi është kofaktor metalik i shumë enzimave dhe sistemeve enzimatike, duke përfshirë dhe enzimat, që varen nga ATP (Adenozin trifosfati).

Magnezi ka disa funksione, ndër më të rëndësishmet përmendim:

- Pjesëmarrjen si aktivizues i disa enzimave;

- Sintezën e proteinave;
- Ka efekt mbi tonusin muskular dhe në SNQ (vlera të rritura të magnezit janë përgjegjës për depresion nervor, ndërsa vlera të ulura të tij, shkaktojnë kriza tetanike dhe konvulsione) (Elin, 1988; Fawcett et al., 1999);

Ashtu si dhe kaliumi, magnezi është më i përqëndruar në hapësirën brenda qelizore. 30 % e magnezit të marrë me anë të dietës absorbohet në nivelin intestinal, sikurse dhe kaliumi.

70 % e magnezit plazmatik, domethënë pjesa e lirë (magnezi i jonizuar ose kompleks) filtrohet në nivelin glomerular, reabsorbohet me shumicë në tubulin proximal dhe më pas sekretohet në mënyrë aktive në nivelin e tubulit distal.

Një numër i madh studimesh kanë treguar që mungesa e Mg lidhet me çrregullimet e Ca, fosfateve dhe kaliumit gjatë çrregullimeve kardiake sidomos në aritminë ventrikulare e cila është rezistente ndaj mjekimit klasik (Fawcett et al., 1999; Farrell, 1984).

Aldosteroni dhe adrenokortikosteroidet lehtësojnë ekskretimin tubular të tij.

Ekskretimi urinar i magneziumit varion nga 3.1-5.1 mmol/24 h ose 75- 125 mg/24 h, në varësi të koncentrimin hematik dhe në disa raste dhe ritmit cirkadian (Greenway et al., 1996).

Magneziumi që gjendet në indin kockor, ndodhet në trajtë të kripërave komplekse me fosfatin e kaliumit dhe joneve të tjera të pranishme.

Rastet me hipermagnezemi simptomatike takohen në mënyrë frekvente në pacientët që vuajnë nga insuficiencia renale.

Në rastet e tjera si: insuficiencia kortikale, hipotiroidizmi, diabeti i dekompenzuar, kemi mungesë të simptomave klinike të hipermagnezemisë.

Për të vendosur diagnozën e mungesës së magnezit, ndonjëherë është pothuajse e vështirë, duke ditur faktin që sasia më e madhe e tij i përket hapësirës brenda qelizore dhe një fraksion fare i vogël i këtij metali ndodhet në hapësirën intersticiale, kështu që magnezemia nuk reflekton shpesh gjendjen e përgjithshme të këtij metali në organizëm.

Hipomagnezemia është rrjedhojë e marrjes së pamjaftueshme të magnezit me anë të dietës (si psh në rastet e laktacionit të gjatë, pacientët në fazën post operatore) ose absorbimit inadekuat (keqthithja, alkoolizmi, keqshqyerja, diarre e rëndë, etj) dhe në fund në sëmundjet të tilla si: hiperaldosteronizmi, hiperparatiroidizmi, hipertiroidizmi, acidoza diabetike, terapia me diuretikë (Milart et al., 1995).

Kohët e fundit studime të ndryshme kanë treguar që përqëndrimi i magnezit ndryshon në mënyrë sinjifikative në hepatitin alkolik, sëmundjet e veshkave, diabetin e sheqerit.

Magnezi në hapësirën vaskulare përfaqëson vetëm një fraksion të sasisë së magnezit, që ndodhet në organizmin e njeriut. Megjithatë matje e magnezit në serum, në krahasim me matjen e magnezit brenda qelizor është më e thjeshtë dhe jep informacion të mjaftueshëm, për vlerësimin e magnezit në gjendjen e tij defičit në organizëm.

Magnezi në urinë

Në nivelin e veshkave magnezi filtrohet në glomerula dhe riabsorbohet në tubat renalë, nën veprimin e parathormonit PTH (që rrit riabsorbimin) dhe hormonit aldosteron (që ul riabsorbimin). Vlerat normale të magnezit në urinë varen nga shumë faktorë.

Vlera të larta të magnezit në urinë takohen në këto patologji:

- Hipoparatiroidizëm;
- Hiperaldosteroidizëm;
- Koma diabetike'terapia me diuretikë;
- Gjatë riabsorbimit të edemave;

Vlera të ulëta të magnezit në urinën e 24 orëve takohen në:

- Insufiçensën renale akute;
- Në rritjen e azotemisë në gjak;
- Pielonefritin kronik;
- Hipertension;
- Hiperparatiroidizëm;
- Sëmundjen Addison (Elin, 1988; Ising et al., 1995);

2. MATERIALI BIOLOGJIK PËR PËRCAKTIMIN E ELEKTROLITËVE

Materiali biologjik më i përshtatshëm për të matur elektrolitët e organizmit të njeriut janë lëngjet biologjike. Lëngjet e organizmit, ku mund të maten elektrolitët janë:

- Serumi i gjakut
- Plazma e gjakut
- Gjaku integral
- Urina e 24 orëve
- Lëngu trunoshpinor

Më të përdorshmit në praktikën laboratorike janë serumi i gjakut dhe urina e 24 orëve. Marrja korrekte e materialit biologjik për analiza biokimike është një nga elementët kryesorë të fazës preanalitike. Kjo është e lidhur drejtëpërsëdrejti me korrektësinë dhe saktësinë e analizave biokimike. Çdo marrje apo përpunim i gabuar i materialit biologjik do të çojë në analiza biokimike të gabuara dhe jo reale (Buzo, 1993; Ising et al., 1995; Leskoviku et al., 1982).

2.1. Serumi i gjakut

Serumi i gjakut është materiali kryesor biologjik për të realizuar analiza biokimike për studimin dhe diagnostikimin e organizmit të njeriut. Në serumin e gjakut mund të bëhet pjesa më e madhe e analizave biokimike duke përjashtuar faktorët e koagulimit të gjakut, hemoglobinën dhe derivatet e saj. Për të përfutur serumin e gjakut, gjaku i marrë nga organizmi hidhet në një tub qelqi të thatë apo në tuba plastikë, që përmbajnë sfera qelqi apo xhel. Sferat e qelqit dhe xheli shërbejnë si katalizatorë për të përshpejtuar zërthimin e fibrinogjenit dhe formimin e koagulit të kuq dhe përfitimin e serumit.

Skema teknologjike e formimit të serumit është si vijon:

- Në një tub qelqi të thatë apo në një tub me sfera qelqi apo xhel, hidhen me kujdes 5 deri 10 ml gjak, i marrë zakonisht, me anë të punktimit venoz;
- Lihet në qetësi, në pozicionin vertikal, për një interval kohor 5 deri 10 minuta. Vendosja e tubit, në një termostat apo inkubator, me një temperaturë 37°C, shpejton zërthimin e fibrinogjenit;

- Tubi me gjak, pas këtyre procedurave centrifugohet për 5 deri 10 minuta në centrifugë me 3000-5000 rrotullime për minutë. Në këtë mënyrë, pas centrifugimit, fitohet serumi i gjakut. Në kushte normale, serumi i gjakut është një lëng me ngjyrë të verdhë të zbehtë.

N.q.s serumi i gjakut paraqet një ngjyrë të kuqe, kjo do të thotë që serumi është i hemolizuar. Hemoliza është një dukuri, që shkaktohet nga çarja e eritrociteve (rruazave të kuqe, RBC) gjatë procesit të përfitimit të serumit. Shkaqet e hemolizës janë thjesht teknike, duke përjashtuar rastin, kur pacienti vuan nga anemia hemolitike.

Serumi i hemolizuar nuk duhet të përdoret për analiza biokimike. Kjo për arsye se eritrociti është shumë i pasur me elektrolitë, metabolite dhe enzima, të cilët gjatë çarjes së eritrociteve dalin në serumin e gjakut dhe rrisin përqëndrimet e tyre duke dhënë rezultate analitike të larta, jo reale ose fallco pozitive (Koch & Peters, 1999).

2.2. Plazma e gjakut

Për realizimin e analizave biokimike, përdoret gjithashtu plazma e gjakut. Për të përfutur plazmën e gjakut, gjaku i organizmit merret me një tub, që përmban heparinë. Për të përfutur plazmën e heparinizuar, përdoret skema teknologjike e mëposhtme:

- Në tubin, që përmban 2 pika heparinë hidhen 5-10 ml gjak, i marrë me anë të punktimit venoz dhe rrallë me anë të punktimit arterial, të cilin mund ta realizojnë vetëm mjekët reanimatorë;
- Tubi mbyllet me tapë dhe përzihet lehtë për ta shpërndarë antikoagulantin heparinë, në të gjithë volumin e gjakut;

- Tubi me gjakun e heparinizuar centrifugohet për 3-5 minuta në centrifugë me shpejtësi 3000-5000 rrotullime në minutë. Në këtë mënyrë fitohet plazma e heparinizuar. Plazma e heparinizuar e fituar me anë të kësaj procedure teknologjike, në kushte normale, ka ngjyrë të zbehtë të verdhë (Goxharaj et al., 2012);

Kapitulli II

2. APLIKIME TË FIZIKËS (ANALIZËS INSTRUMENTALE) NË BIOKIMINË ANALITIKE MJEKËSORE

Sipas koncepteve të fizikës së sotme rrezatimet elektromagnetike paraqesin natyrë të dyfishtë:

- Valore
- Grimcore (korpuskulare)

Difraksioni, polarizimi dhe interferenca e dritës dëshmojnë për natyrën valore të rrezatimit elektromagnetik dhe mund të shpjegohen vetëm me anë të teorisë valore. Dukuria fizike e fotoefektit, e mishëruar në teknikat e fotografisë, televizionit dhe spektrofotometrisë, dëshmon për natyrën grimcore (korpuskulare) të rrezatimit. Kjo tezë mëshirohet në mekanikën kuantike. Vala elektromagnetike është përhapja në hapësirë e dy lëkundjeve sinusoidale, njëra me natyrë elektrike dhe tjetra me natyrë magnetike. Vektori i fushës elektrike \vec{E} dhe ai i fushës magnetike \vec{H} ndodhen në një plan dhe janë përpendikularë në raport me njëri-tjetrin.

Vala elektromagnetike përhapet në hapësirë sipas një drejtimi përpendikular me planin ku ndodhen vektori i fushës elektrike \vec{E} dhe vektori i fushës magnetike \vec{H} .

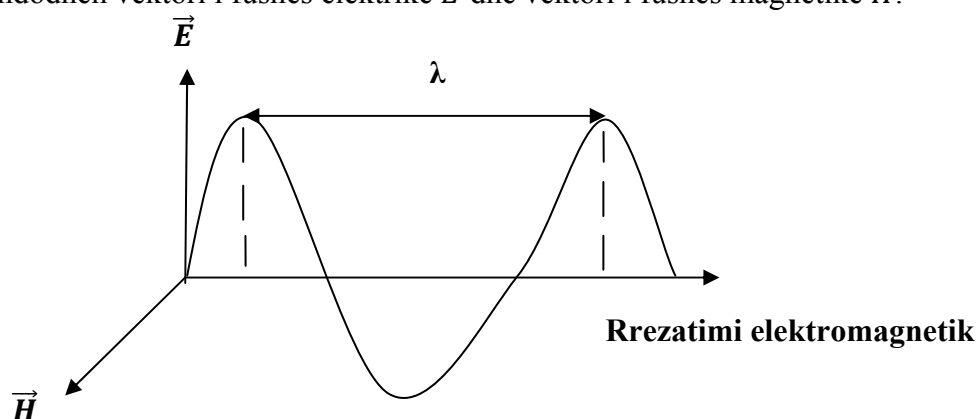


Figura 2.1. Skema e përhapjes së rrezatimit elektromagnetik

Rrezatimi elektromagnetik përhapet në hapësirë me shpejtësinë $C = 300,000 \text{ Km/sek}$. Kjo shpejtësi, që quhet ndryshe dhe shpejtësia e dritës, është e pandryshueshme, pavarësisht nga natyra e rrezatimit elektromagnetik.

Largësia midis 2 maksimumeve të njëpasnjëshme të lëkundjes sinusoidale quhet gjatësi vale dhe shënohet simbolikisht me germën λ . Gjatësia e valës λ është ajo madhësi fizike, që përcakton natyrën e rrezatimit elektromagnetik. Njësia e saj matëse është nanometri, nm.

Koha, gjatë së cilës vala elektromagnetike sinusoidale realizon 2 maksimume të njëpasnjëshme, quhet periodë e rrezatimit elektromagnetik dhe simbolikisht shënohet me T. Në këto kushte ne kemi të drejtë të shkruajmë:

$$\lambda = C * T$$

Një parametër tjetër i rrezatimit elektromagnetik është frekuenca apo shpeshtësia. Ky parametër shënohet me gërmën greke ν dhe përfaqëson numrin e lëkundjeve elektromagnetike gjatë periodës T .

Lidhja matematike midis periodës së rrezatimit dhe shpeshtësisë (frekuencës) së tij është :

$$\nu = \frac{1}{T}$$

Teoria valore e rrezatimit elektromagnetik shpjegon vetitë optike të dritës, ku mund të përmendim, refraksionin, difraksionin, interferencën, polarizimin.

Teoria valore nuk shpjegon dot dukuritë fizike të vëna në dukje gjatë bashkëveprimit të rrezatimit elektromagnetik me lëndën. Për të shpjeguar këto dukuri është e nevojshme teoria kuantike e Plankut.

Sipas kësaj teorie rrezatimi dhe absorbimi i rrezatimeve elektromagnetike mund të realizohet vetëm në mënyrë diskrete (jo të vazhdueshme). Njësia elementare e rrezatimit apo absorbimit të rrezatimit elektromagnetik nga lënda, quhet kuant.

Kuanti i rrezatimit elektromagnetik karakterizohet nga energjia. Energjia e një kuanti jepet nga formula:

$$E = h * \nu \quad \text{ose} \quad E = h * \frac{1}{T}$$

Duke qenë se $\lambda = \frac{c}{\nu}$ del që $\nu = \frac{c}{\lambda}$ dhe energjia e kuantit jepet dhe nga një formulë tjetër

$$E = h * \frac{c}{\lambda}$$

Kjo do të thotë, që sa më e vogël, që të jetë gjatësia e valës së rrezatimit elektromagnetik, aq më e madhe është energjia e kuantit të rrezatimit.

Për sa i përket h , ajo përfaqëson konstanten e Plankut, që është e barabartë me 6.6256×10^{-27} erg-sek dhe vlera e saj nuk ka asnjë lidhje me gjatësinë e valës së rrezatimit elektromagnetik.

Idetë e teorisë së Plank, Ajnshtajni i zbatoi në dukurinë e fotoefektit.

Fotoefekti ka të bëjë me dukurinë e shkëputjes së elektroneve nga metalet, kur mbi to drejtohen rrezatimet elektromagnetike. Sipas teorisë së Ajnshtajnit rrezatimet elektromagnetike mund të përthithen (absorbohen) apo rrezatohen vetëm në formën e kuantëve, pra në mënyrë të ndërprerë (diskrete) dhe jo të vazhdueshme.

Në të njëjtën kohë kuantet mund të përhapen në hapësirë, me shpejtësi të barabartë me atë të rrezatimeve elektromagnetike. Kuantet quhen ndryshe fotone.

Energjia e një fotoni jepet nga formula:

$$E = h \times \nu$$

Në aspektin mikroskopik një rrezatim elektromagnetik konsiderohet si një rreze, që prodhohet nga një burim rrezatimi dhe që përhapet në hapësirë.

Llampa inkandeshente me filament volframit jep rrezatimet e dukshme, apo dritën e bardhë. Llampa halogjene jep rrezatimin ultraviolet dhe atë të spektrit të dukshëm. Llampa e hidrogjenit jep rrezatim ultraviolet.

Burimet e mësipërme të rrezatimit, janë pjesa funksionale, më e rëndësishme e aparateve fotometrike, që përdoren për matje në laboratorët mjekësorë.

Në praktikën e biokimisë mjekësore përdoren kryesisht 3 pjesë të spektrit elektromagnetik të rrezatimeve:

- Rrezatimi ultraviolet, me simbolin UV dhe me gjatësi vale nga 200 nm në 380 nm.
- Rrezatimi i dukshëm, me simbolin VIS dhe me gjatësi vale nga 380 nm në 780 nm.
- Rrezatimi infra i kuq me simbolin IR dhe me gjatësi vale nga 780 nm në 3000 nm

Rrezatimi i dukshëm me gjatësi vale nga 380 nm në 780 nm, perceptohet nga syri i njeriut dhe është baza fizike dhe fiziologjike e ekzistencës së ngjyrave.

Radha e ngjyrave fillon me gjatësitë e valëve më të vogla, duke shkuar drejt gjatësive të valëve më të mëdha.

Kjo radhë është sipas kësaj renditjeje:

Violet → blu → gjelbër → verdhë → portokalli → kuqe

Ngjyra e dukshme e një tretësire korrespondon me gjatësinë e valës së dritës, që përshkon këtë tretësirë (transmisohet). Valët e absorbuara nga tretësira, nuk mund të japin dukurinë e ngjyrave (Kaplan & Pesce, 1991; Kaplan, 1995).

Nga pikëpamja fizike, ngjyra (rrezatimi) e absorbuar është komplementare me ngjyrën e transmisuar. Për këtë arsye, për të bërë matje të absorbimit, duhet të përdoren rrezatime me gjatësi vale të tillë, që absorbohet nga tretësira e ngjyrosur (Pesce & Kaplan, 1987).

Në tabelën e mëposhtme, jepet lidhja midis gjatësive të valëve, ngjyrave të tyre dhe ngjyrave të tretësirave, ku ato absorbohen (përthithen).

Tabela 2.1. Lidhja midis gjatësisë së valës së rrezatimit, ngjyrës së tij dhe ngjyrës së tretësirës ku ai absorbohet

Gjatësia e valës nm	Ngjyra e rrezatimit	Ngjyra e tretësirës ku absorbohet
380-435	Violet	Verdhë Gjelbër
435-490	Blu	Verdhë
490-500	Kaltër	Kuqe
500-580	Gjelbër	Kuqe
580-590	Verdhë	Blu
590-650	Portokalli	Jeshil Blu
650-780	Kuqe	Blu Jeshil

Një tretësirë me ngjyrë të kuqe, absorbon (përthith) rrezatimin e gjelbër dhe përshkohet (transmision) rrezatimin e kuq. Kjo do të thotë, që një tretësirë analitike me ngjyrë të kuqe, duhet të matet me ato rrezatime, që kanë gjatësi vale nga 490 nm në 580 nm, pra nga rrezatimet me ngjyrë të kaltër dhe të gjelbër.

Drita e bardhë, që rrezatohet nga dielli (drita natyrale) dhe nga llampat inkandeshente me filament volfram (drita artificiale) është e përbërë nga të gjitha rrezatimet elektromagnetike, që përbëjnë spektrin e dukshëm. Drita e bardhë quhet polikromatike (shumë ngjyrëshe).

N.q.s një trup fizik, i ngurtë apo i lëngët, e transmeton ose e reflekton totalisht ngjyrën e bardhë, në syrin human krijohet perceptimi i ngjyrës së bardhë.

N.q.s trupi fizik, i ngurtë apo i lëngët, e absorbon (përthith) totalisht dritën e bardhë, në syrin e njeriut krijohet perceptimi i ngjyrës së zezë.

Në rast se një trup fizik, i ngurtë apo i lëngët, transmeton apo reflekton, vetëm një rrezatim elektromagnetik të dritës së dukshme dhe përthith (absorbon) gjithë të tjerët, ai ka ngjyrën e rrezatimit të transmetuar apo të reflektuar.

Një tretësirë ka ngjyrë të verdhë, për arsye se ajo përshkohet (ka transmision) apo reflekton rrezatimet elektromagnetike me gjatësi vale të caktuar, të cilët duke rënë në syrin e njeriut, japin perceptimin e ngjyrës së verdhë. Gjithë rrezatimet e tjera, kjo tretësirë i absorbon (i përthith).

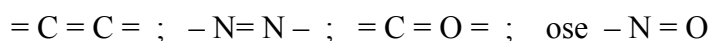
Rrezatimi elektromagnetik bashkëvepron me lëndën (materien) dhe ky bashkëveprim manifestohet në trajtën e tre dukurive (fenomeneve).

- Reflektimi i rrezatimit elektromagnetik. Mbas bashkëveprimit të këtij rrezatimi me lëndën, një pjesë e rrezatimit reflektohet duke dhënë spektrin e reflektimit.
Dukuria e reflektimit në biokiminë mjekësore, gjen zbatim në metodikat e kimisë së thatë, (dry chemistry);
- Absorbimi (përthithja) e rrezatimit elektromagnetik
Një tretësirë e ngjyrosur përmban makromolekula. Gjatë kalimit të rrezatimit elektromagnetik, nëpër një tretësirë të tillë, një pjesë e kuantëve të rrezatimit, përplasen me makromolekulat dhe përthithen prej tyre. Kjo do të thotë, që rrezatimi elektromagnetik, që përshkon tretësirën e ngjyrosur, humbet një pjesë të energjisë së tij. Ky është thelbi i dukurisë fizike të absorbimit;
- Transmisioni i rrezatimit elektromagnetik. Kjo dukuri ndodh në ato raste, kur gjatë kalimit të rrezatimit elektromagnetik, nëpër një tretësirë të ngjyrosur apo material transparent, nuk ndodh asnjë bashkëveprim midis kuantëve të rrezatimit dhe molekulave apo makromolekulave të tretësirës. Kjo do të thotë që energjia dhe intensiteti i rrezatimit elektromagnetik, nuk ndryshon. Ky është thelbi i dukurisë fizike të transmisionit;

Një tretësirë transparente nuk absorbon asnjë rrezatim të spektrit të dukshëm. Shembulli më i goditur është uji kimikisht i pastër d.m.th uji distile apo bidistile.

Një trup opak i bardhë reflekton të gjitha rrezet e spektrit të dukshëm, pa absorbuar asnjë prej tyre, çka shoqërohet me vizibilitet të bardhë.

Nga këndvështrimi kimik, ngjyra e një kompleksi organik varet nga prania e grupeve ngjyrëformuese (kromofobe) me karakteristikë praninë e lidhjeve të tipit:



Karakteristikë e këtyre grupeve është prania e elektroneve të lira, të cilët kërkojnë intensitet të vogël të rrezatimit, për të pësuar spostime (zhvendosje) në shtresën elektronike.

Prania e dy ose më tepër grupeve kromoforike shoqërohet me efektin << batokromik>>, çka shoqërohet me zhvendosje të brezit spektral të absorbimit, drejt gjatësive të valëve më të mëdha (Leskoviku et al., 1982; Goxharaj et al., 2012).

2.1 Ligji i Lambert – Beer dhe metodat fotometrike në biokiminë mjekësore

a) Koncepte bazë

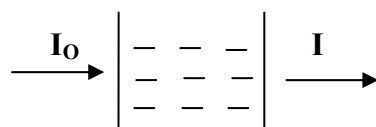


Figura 2.2. Transmittanca e një rrezatimi monokromatik me intensitet I_0 nëpër një kyvetë, që përmban një tretësirë të ngjyrosur

Në rast se një rrezatim monokromatik, me intensitet I_0 , kalon nëpër një tretësirë të ngjyrosur, një pjesë e energjisë së tij, absorbohet (përthithet) nga makromolekulat e tretësirës së ngjyrosur.

Për rrjedhojë, rrezatimi monokromatik, do të dalë nga tretësira e ngjyrosur, me një intensitet më të vogël se I , pra $I < I_0$. Kusht është që ngjyra e rrezatimit monokromatik dhe ngjyra e tretësirës të jenë komplementare, pra të kenë pozicione në spektrin e dukshëm, dy breza spektralë larg njëra-tjetrës.

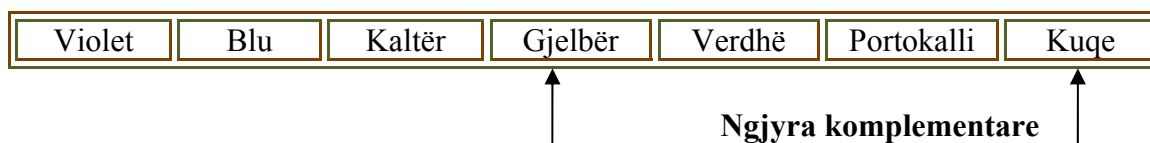


Fig 2.3. Paraqitja skematike e spektrit të dukshëm

Me përkufizim raporti $\frac{I}{I_0}$ quhet transmision.

Zakonisht transmisioni paraqet në përqindje % $T = \frac{I}{I_0} * 100$

N.q.s përqëndrimi i tretësirës së ngjyrosur rritet, më shumë rrezatim do të absorbohet (përthithet) dhe intensiteti I i rrezatimit, që ka përshkuar kyvetën me tretësirën e ngjyrosur, do të zvogëlohet.

Lidhja midis T në përqindje dhe përqëndrimit nuk është lineare, por invers logaritmik. Paraqitja grafike e kësaj varësie jepet në figurën e mëposhtme:

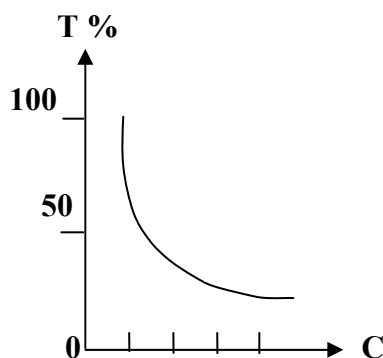


Fig 2.4. Grafiku i varësisë së T % nga C

N.q.s grafiku ndërtohet në një letër gjysëm logaritmike, merret një vijë e drejtë me pjerrësi negative.

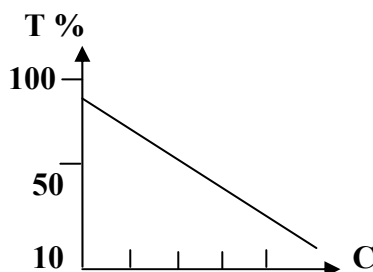


Fig 2.5. Grafiku në letër grafike semilogaritmike i varësisë së T % nga C

Si rrjedhojë e mungesës së varësisë lineare midis transmisionit në përqindje T % dhe përqëndrimit C, koncepti i transmisionit përdoret rrallë në metodikat analitike të biokimisë mjekësore.

Për të mënjeluar përdorimin e njësive logaritmike, është përpunuar koncepti i absorbancës së rrezatimit elektromagnetik, gjatë kalimit të tij, nëpër një tretësirë të ngjyrosur.

Me përkufizim absorbanca është e barabartë me logaritmin dhjetor, të inversit të transmisionit:

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I}$$

N.q.s transmisioni shprehet në % formula e përkufizimit merr formën:

$$A = \log \frac{100}{T \%} = \log 100 - \log T \% = 2 - \log T \%$$

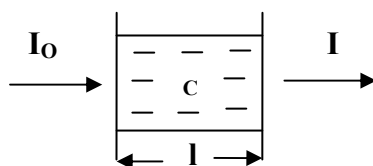
Sinonimet e absorbancës (përthithjes), që përdoren në biokiminë analitike mjekësore janë ekstinksjoni E dhe densiteti optik D.O.

$$A = E = D.O = \log \frac{I_0}{I}$$

Në bazë të konceptit të absorbancës (përthithjes) është përpunuar ligji i Lambert Beer (Goxharaj et al., 2012; Leskoviku et al., 1982).

2.1.1 Ligji i Lambert – Beer në formën e aplikimit të tij në biokiminë mjekësore

Ligji i Lambert-Beer shpreh lidhjen matematike midis absorbancës (përthithjes) dhe përqëndrimit të substancës, që analizohet në tretësirën e ngjyrosur.



$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

Formula që jep ligjin e Lambert – Beer është :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon_{\lambda} * l * c$$

Në këtë formulë :

ϵ_{λ} → është koeficienti gram molekular i absorbimit. Ky parametër përfaqëson absorbancën e substancës, që analizohet me kusht, që përqëndrimi i saj të jetë 1 mol/l.

ϵ_{λ} është një madhësi konstante, për një substancë të caktuar biokimike, me kusht që absorbanca të matet në të njëjtën gjatësi vale, me të cilën bëhen matjet analitike. Si rregull kjo gjatësi vale është ajo gjatësi vale, ku substanca e ngjyrosur ka maksimumin e saj të absorbimit;

l → është trashësia e tretësirës optikisht të ngjyrosur, që përshkon rrezatimi elektromagnetik. Ndryshe l quhet rrugë optike (light path). Në laboratorët mjekësore, përdoret për matje kyveta standarde me l= 1 cm;

C → është përqëndrimi i substancës, që analizohet;

Analiza e formulës së ligjit të Lambert-Beer dëshmon qartë, që absorbanca (përthithja) është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e substancës, që analizohet.

2.2 Zgjedhja e gjatësisë së valës për matje fotometrike

Për të pasur sukses, në analizën sasiore të kampionit biologjik, ka rëndësi zgjedhja e gjatësisë së valës. Vala e zgjedhur duhet të zotërojë specificitet ndaj tretësirës së ngjyrosur, që analizohet.

Faktorët të cilët ulin ndjeshmërinë e analizës dhe çojnë në zgjedhje të gabuar të gjatësisë së valës janë:

- Papastërtitë kimike në mjedisin e analizës;
- Ndryshimet e pH në reaksionin analitik;
- Prania e metaleve të rënda në ujin destile të përdorur gjatë procedurës analitike;
- Gabime optike në aftësinë diferencuese të sistemit optik të fotometrit (Pesce & Kaplan, 1996).

Një nga metodat e përshtatshme, për të gjetur gjatësinë e valës së përshtatshme është studimi i kurbës së absorbimit maksimal, të substancës, që analizohet.

Në këtë metodë, absorbanca (A) e tretësirës së ngjyrosur matet në një numër të ndryshëm gjatësish valësh. Me të dhënat e fituara ndërtohet grafiku i funksionit $A = f(\lambda)$

Për këtë, në boshtin horizontal vendosen gjatësitë e valës së rrezatimeve të ndryshme, ku është matur absorbanca e tretësirës së ngjyrosur, ndërsa në boshtin vertikal vlerat përkatëse të absorbimeve të matura. Lakorja (kurba) e fituar quhet lakorja spektrale e absorbancës, spektri i absorbimit, ose skanimi spektral. Çdo substancë kimike, në gjendje tretësire, me ngjyrë ose pa ngjyrë ka spektrin e saj të absorbimit.

Këto lakore përdoren për të përcaktuar gjatësitë e valëve, në të cilat substanca ka maksimume absorbimi (absorption maximal) dhe gjatësitë e valëve, në të cilat substanca ka absorbime minimale (absorption minimal).

Përderisa spektri i absorbimit maksimal përbëhet nga pozicioni, pjerrësia dhe madhësia e çdo piku dhe këto janë unike për çdo substancë, ai përdoret për të përcaktuar valën më të përshtatshme, për një metodë analitike spektrofotometrike.

Në figurën e mëposhtme jepet shembulli i një spektri të absorbimit maksimal.

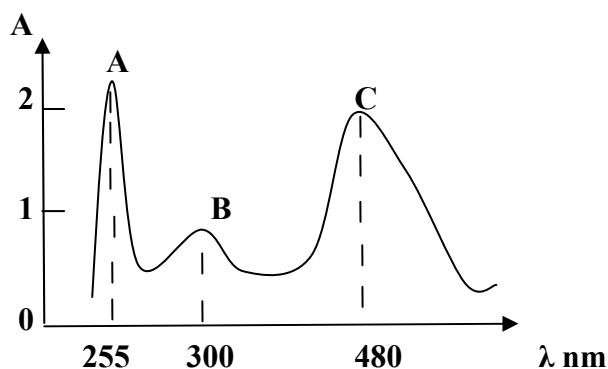


Fig 2.6. Spektër i absorbimit maksimal të substancës hipotetike, e cila paraqet 3 maksimume absorbimi A, B dhe C

Nga figura shihet qartë, që piku A ka absorbancën maksimale. Në përputhje me ligjin e Lambert Beer, ky do të ishte një pik ideal, me ndryshimin më të madhe, për të matur përqëndrimin e kësaj substance.

Në mënyrë të përmbledhur veçoritë kryesore në zgjedhjen e gjatësive të valëve janë:

- Gjatësia e valës duhet të jetë e tillë, që të kemi përpjesëtim të drejtë midis absorbancës dhe përqëndrimit;
- Ndryshimi i përqëndrimit në raport me ndryshimin e absorbancës (ekstinksjonit) duhet të jetë sa më i madh, pra $\Delta E/\Delta C$ duhet të jetë më e madhe. Kjo do të thotë, që me ndryshimin e përqëndrimit brenda intervalit normal apo patologjik të vlerave, absorbanca ndryshon në madhësi të konsiderueshme. Vlerat e absorbancës të përshtatshme për matje janë në intervalin 0.1 deri në 1.0. Për tretësirat me ngjyrë të kuqe zgjidhen filtra me ngjyrë blu, ndërsa tretësirat me ngjyrë të gjelbër maten me rreze optike, që fitohen nga filtra me ngjyrë të kuqe. Tretësirat me ngjyrë të verdhë zgjedhin për të realizuar matjen, filtra me ngjyrë vjollcë (Goxharaj et al., 2012; Leskoviku et al., 1982).

2.3 Ndërtimi principal i një fotometri

Aparati që bën të mundur matjen e absorbancës (ekstinksjonit) është fotometri. Skema më e thjeshtë e një fotometri është e paraqitur në figurën e mëposhtme:

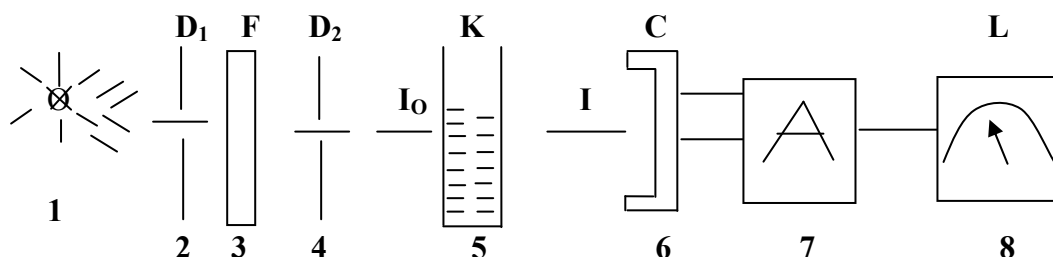


Fig. 2.7. Skema e një fotometri të thjeshtë

1. Burimi spektral, që jep rrezatimin e përbërë polikromatik;
2. Diafragma D_1 ;
3. Filtri optik F i ngjyrosur, i cili nga rrezatimi polikromatik veçon rrezatimin monokromatik, i nevojshëm për të matur absorbancën;
4. Diafragma D_2 ;
5. Kyveta K, ku ndodhet tretësira analitike;

$$A = E = D.O = \log \frac{I_0}{I}$$
6. Celula fotoelektrike C, e cila intensitetin e rrezatimit e transformon në sinjal elektrik;
7. Amplifikator elektronik;
8. Sistemi i leximit L;

N.q.s. për të përfutur rrezatimin monokromatik, përdoret filtër qelqi transparent i ngjyrosur, aparati quhet fotometër. Kur rrezatimi monokromatik përftohet me anë të prizmeve të kuarcit ose rrjetave të difraksionit, aparati quhet spektrofotometër.

Kyveta matëse, në trajtë paralelepiedi kënddrejtë, distancën midis dy faqeve transparente e ka 1 cm. Për matje me rrezatime ultraviolet i largët nga 200 nm në 320 nm, kyveta duhet të jetë prej xhami kuarc, ndërsa për gjatësi vale nga 320 nm deri 950 nm, kyveta duhet të jetë prej qelqi pa ngjyrë.

Fotometri është një pajisje fiziko-elektronike. Që ai të masë në mënyrë të besueshme, duhet që herë pas here të kontrollohet dhe kolaudohet teknikisht. Në mënyrë periodike tek një fotometër duhen kontrolluar ndjeshmëria e filtrave, ndjeshmëria e fotocelulës, rendimenti i llambës së rrezatimit dhe funksionimi i sistemit hidraulik.

Në fotometrat klasikë të shekullit të kaluar, FEK 581, Spekol 1, Spekol 10, Spektronic, etj absorbanca ($A = \log \frac{I_0}{I}$) teknikisht e matur saktë është e përfshirë në intervalin 0.1-1.0. për absorbanca më të larta përdorej metoda e hollimit.

Në fotometrat dixhitalë, të pajisur me mikroprocesor, absorbanca maten saktë në intervalet 0.1-2.0 dhe 0.1-3. Në mikrofotometrat, që përdoren në metodën ELISA, intervali i matjes së absorbancave zgjerohet akoma më shumë. Këto fotometra janë psh BTS 310 Plus, BTS -350 Plus, Minitecno, BA-88, etj.

Përdorimi i tyre është kryesisht për analiza të biokimisë mjekësore, ku kromogjenët analitikë, duke vepruar me substancat apo elementët që analizohen, japin komplekse të ngjyrosura, të cilët kanë absorbanca më të mëdha sesa 1.0 (Leskoviku et al., 1982; Burtis & Ashood, 2001).

2.4. Metoda e absorbimit atomik ose spektrofotometria e absorbimit atomik, AAS

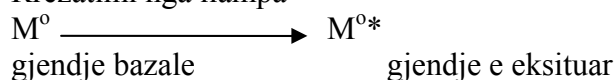
Kjo metodë përdoret në laboratorët mjekësore për të përcaktuar mikroelementët në lëngjet biologjike. Në të njëjtën kohë ajo përdoret dhe si metodë etalon, për të përcaktuar elektrolitët në gjak dhe në urinë (Marshall, 1998).

Në laboratorët mjekësorë, me këtë metodë, më shpesh matet kalciumi dhe magnezi. Spektrofotometria e absorbimit atomik bazohet në absorbimin e rrezatimeve elektromagnetike nga atome të paeksituara (neutrale), të pranishme në flakë stekimetricke.

Rrezatimi elektromagnetik konsiston nga një rrezatim elektromagnetik specifik, me gjatësi vale rigorozisht të përcaktuar. Kjo metodë bazohet në parimin e Kirhof. Sipas këtij ligji, çdo element kimik është në gjendje të absorbojë atë rrezatim elektromagnetik, të cilin ai mund ta rrezatojë, gjatë ngacimit të atomeve të tij, me energji të jashtme. Rrezatimet elektromagnetike, në metodën e absorbimit atomik prodhohen, nga disa pajisje të posaçme, që quhen llampa me katodë të zgavërt.

Kationet dyvalentë që ndodhen në flakë, në gjendje të jonizuar, kapin elektrone, që ndodhen në gazet, që reduktohen në flakë dhe kalojnë në atome neutrale, me energji minimale, bazale. Në metodën e spektrofotometrisë me absorbim atomik, fillimisht mostra e lëngshme pulverizohet në flakë dhe aty formohen atome neutrale. Rrezatimet elektromagnetike të prodhuara nga llampa me katodë të zgavërt, fokusohen dhe kalojnë nëpërmjet flakës, që përmban atomet neutrale. Atomet në gjendje neutrale absorbojnë energjinë elektromagnetike të rrezatimit, nga llampa me katodë të zgavërt, duke shkaktuar tranzicion elektronik, nga gjendja neutrale, në gjendjen e eksituar.

Rrezatimi nga llampa



Rrezatimet elektromagnetike të transmittuara (që kanë përshkuar bashkësinë e atomeve neutrale të pranishëm në flakë), të cilët nuk janë absorbuar nga atomet neutrale, arrijnë në sistemin e monokromatizimit.

Monokromatori lejon të kalojë vetëm një sinjal rrezatimi të pastër dhe fotodedektori regjistron një ulje të intensitetit të dritës, që vjen nga rrezja me katodë të zgavërt.

Ulja e intensitetit të rrezatimit të prodhuar nga llampa me katodë të zgavërt është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e jonit (elektrolitit) në mostër.

Në temperaturën e flakës, rreth 99,99 % e atomeve janë në gjendje bazale.

Për këtë arsye AAS është më e ndjeshme se sa fotometria me flakë (Kaplan & Pesce, 1991; Kaplan, 1995).

2.4.1. Pjesët përbërëse të spektrofotometrit me absorbim atomik

Pjesët përbërëse të një spektrofotometri me absorbim atomik janë të ngjashme në shumë drejtime, me ato të një spektrofotometri UV-VIS. (ultraviolet-vizibël).

Sistemi i monokromatizimit të rrezatimit, fotodedektimit dhe pajisjet e leximit të rezultatit të matjes janë të njëjta.

Pjesa thelbësore e spektrofotometrit me absorbim atomik, janë llambat me katodë të zgavërt, që japin rrezatimet specifike për çdo element, që duhet matur dhe sistemi pulverizator-bek Bunsen i flakës, që shërben si kyvetë, ku formohet bashkësia e atomeve neutrale.

Në figurën e mëposhtme, jepet skema principale e një spektrofotometri me absorbim atomik.

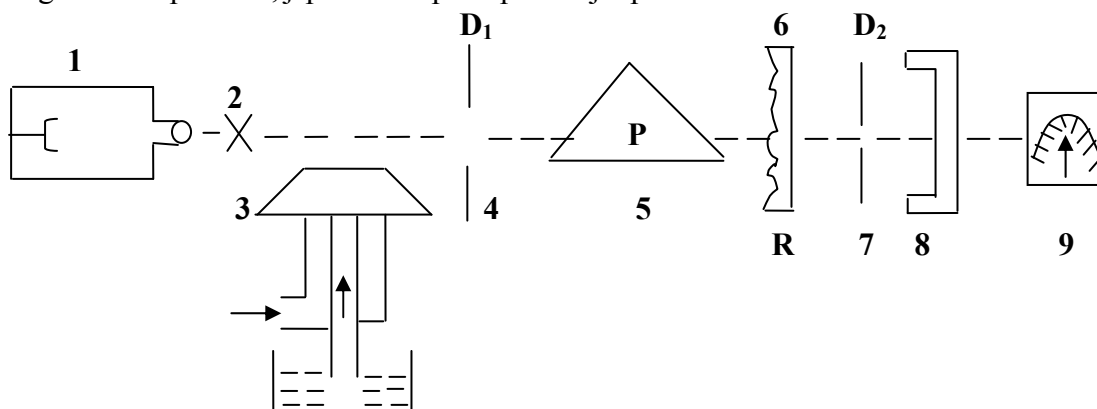


Fig 2.8. Skema principale e spektrofotometrit me absorbim atomik

1. Burimi i rrezatimit, llamba me katodë të zgavërt
2. Transformuesi i frekuencës (chopper)
3. Sistemi i flakës dhe pulverizimit të mostrës analitike
4. Diafragma e parë
5. Sistemi i monokromatizimit të rrezatimit me prizëm kuarci P ose me rrjetë difraksioni R
6. Rrjetë difraksioni R
7. Diafragma e dytë
8. Fotocelula e dedektimit të rrezatimit
9. Sistemi i leximit

Llampa me katodë të zgavërt

Funksioni i llampës me katodë të zgavërt, është që të prodhojë rrezatime elektromagnetike me gjatësi vale specifike, të cilat janë karakteristike, të zhvendosjes së elementit nga gjendja bazale në një gjendje të eksituar.

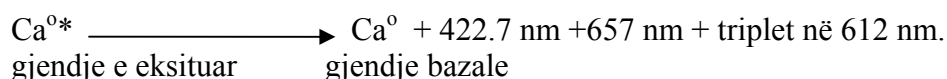
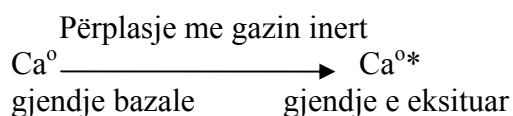
Në mënyrë të thjeshtë llampa me katodë të zgavërt është e ndërtuar si vijon:

Një katodë cilindrike e ka sipërfaqen aktive, të mbuluar me një shtresë të hollë uniforme, të elementit kimik, që do të matet. Kjo do të thotë, që për çdo element kimik, që ne duam të analizojmë, ne disponojmë llampën përkatëse me katodë të zgavërt. Kështu për të matur kalciumin në lëngje të ndryshme, sipërfaqja aktive e katodës është e mbuluar, me një shtresë uniforme kalciumi të pastër metalik, i cili jep tre rrezatime elektromagnetike 422.7 nm, 657 nm si dhe 612 nm. Katoda dhe anoda e llampës me katodë të zgavërt janë vendosur në një ampulë qelqi, që përmban një gaz inert monoatomik, si kaliumi apo argoni, gjithmonë me presion të ulët.

Dritarja nga kalon rrezatimi në llampën me katodë të zgavërt, është e përbërë nga xhami kuarc. Kjo është e nevojshme, për të bërë të mundur dhe kalimin e rrezeve ultraviolett, të cilat pengohen nga xhami optik i zakonshëm. Midis anodës dhe katodës aplikohet një tension elektrik i caktuar dhe kështu prodhohen elektrone. Këto elektrone të përshpejtuara nga fusha elektrike, përplasen me atomet e gazit inert, duke prodhuar atome të jonizuara të gazit.

Përshpejtimi i joneve dhe përplasia e tyre me katodën metalike të elementit që përcaktohet, prodhon çlirimin e atomeve të elementit që përcaktohet dhe formohet një re atomike. Përplasjet e tjera të joneve atomikë, me renë atomike të elementit që përcaktohet, çon në eksitim të këtyre të fundit, duke dhënë rrezatimet elektromagnetike analitike karakteristike.

Më poshtë jepet skema e kësaj dukurie për kalciumin:



Krahas spektrofotometrisë së absorbimit, në mjekësinë laboratorike gjejnë përdorim dhe metoda të tjera të analizës instrumentale (Tielz, 1976).

2.5. Fluorometria

Një tjetër metodë, që përdoret shpesh në laboratorët mjekësorë, është fluorometria. Kjo metodë bazohet në dukurinë e fluoreshencës. Shumë substanca inorganike apo organike, gëzojnë vetinë e fluoreshencës. Këto substanca, kur ngacmohen me rrezatime ultraviolette, fitojnë vetinë për të rrezatuar, rrezatime të dukshme, nga 380 nm deri në 780 nm. Intensiteti i këtij rrezatimi, që quhet rrezatim fluoreshent, është në përpjesëtim të drejtë me përqendrimin e atomeve apo molekulave të substancës.

Si rregull, fluoreshenca shkaktohet nga ato molekula, që kanë lidhje të dyfishta të konjuguara, ose kur elektronet në lidhjen e dyfishtë janë lehtësisht të eksitueshëm nga energjia e jashtme, siç është rasti i pranisë të grupeve-NH₂ në molekulë.

Për të matur fluoreshencën përdoret aparati fluorometër, skema e të cilit paraqitet në figurën e mëposhtme (Goxharaj et al., 2012):

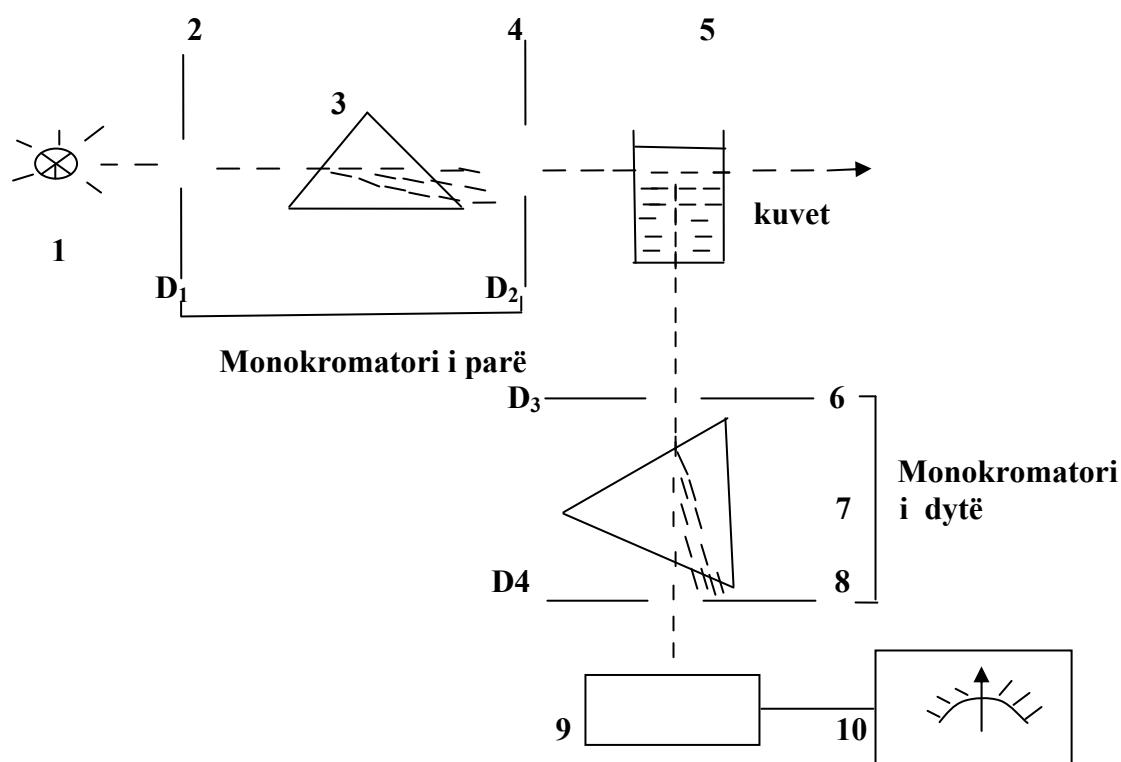


Fig 2.9. Skema principiale e aparatit fluorometër

1. Burimi i rrezatimit ultraviolett, që ngacmon fluoreshencën;
2. Diafragma D₁;
3. Prizmi ose rrjeta e difraksionit të monokromatorit të parë;
4. Diafragma D₂;
5. Kyveta ku ndodhet tretësira, që do të analizohet;
6. Diafragma hyrëse D₃;
7. Prizmi apo rrjeta e difraksionit e monokromatorit të dytë, që veçon rrezet analitike të fluoreshencës;
8. Diafragma dalëse D₄;
9. Sistemi i fotocelulës, që rrezatimin e fluoreshencës, e kthen në sinjal elektrik;
10. Sistemi i leximit të rezultatit;

Metoda e fluoreshencës është 10 deri në 100 herë, më e ndjeshme se sa metoda e fotometrisë. Kjo gjë lejon që të maten përqendrime shumë të vogla në nanogram dhe pikogram. Metoda e fluoreshencës është gjithashtu shumë specifike. Kjo metodë lejon që të maten në laboratorët mjekësorë, hormonet, markuesit tumoralë, porfirinat, aminoacidet sidomos tirozina dhe triptofani, vitaminat, agjentë bakterialë dhe viralë, etj. Kjo metodë aplikohet shumë nga kompania franceze Biomerieux në pajisjen MiniVidas, i cili është një spektrofluorometër automatik, i programuar për metodën e imunofluoreshencës (Tielz, 1976).

2.6. Fotometria me flakë

Fotometria e flakës është një teknikë e veçantë e Spektroskopisë së Emisionit Atomik, që dallohet nga analiza spektrale klasike nga:

- Burimi i eksitimit, i cili në fotometrinë e flakës është një flakë (zakonisht flaka acetilen-ajër);
- Detektori i rrezatimit, që është një pajisje fotoelektrike;
- Gjendja e mostrës, e cila futet në burimin e eksitimit në trajtën e aerosolit të lëngët;

Fotometria e flakës bazohet në matjen e intensitetit të rrezatimit, që emetohet nga atomet e eksituara të mostrës në flakë. Spektrat e emisionit të atomeve në flakë janë shumë më të thjeshtë, sesa ata që merren nga eksitimi elektrik dhe kjo përbën përparësinë e kësaj metode (Osmond, 1987).

Flaka shërben për tri funksione bazë:

- Për të kaluar mostrën nga gjendja e lëngët në të gaztë;
- Për të disocijuar molekulat deri në atome të lira (në gjendje avulli atomik);
- Për të shkaktuar eksitimin e atomeve të analitit;

Skema principale e një fotometri me flakë është si vijon:

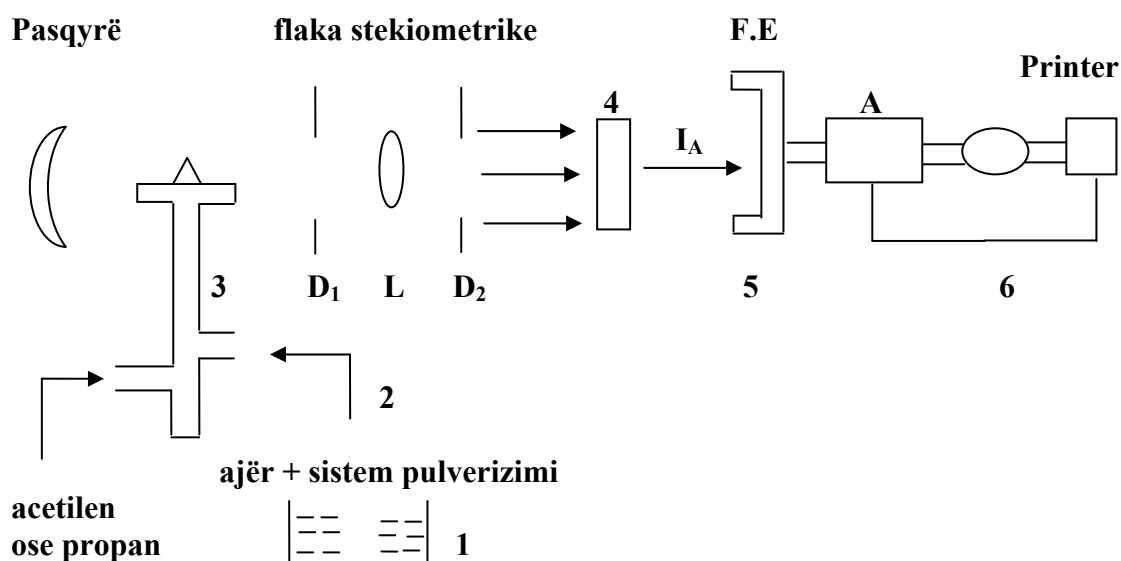


Fig 2.10. Skema principale e fotometrit me flakë

1. Tretësira analitike;
2. Sistemi i pulverizimit, që dërgon në flakë tretësirën analitike, ku ndodhet elektroliti;
3. Flaka stekiometrike;
4. Sistemi i monokromatizimi, që veçon rrezet analitike të elektrolitit me gjatësi vale të caktuar;
5. Fotodedektori, që kthen rrezatimin analitik në sinjal të matshëm elektrik;
6. Sistemi i komandimit, matjes dhe përpunimit të rezultatit (Leskoviku et al., 1982);

2.7. Metoda me elektroda jono-selektive

Matjet e elektrolitëve në gjak dhe në produktet e tij apo në tretësira biologjike, tradicionalisht janë bërë dhe vazhdojnë të bëhen me metodën e fotometrisë me flakë. Përpunimi i metodës analitike të shtesave standarde e rriti shumë saktësinë e kësaj metode duke mënjanuar interferencat që lindin në flakë. Në metodën e shtesave standarde, mostra analitike hollohet me një tretësirë me përqëndrim të njohur të një joni referent.

Në mjekësi dhe në shkencat biologjike si jone referente përdoren litiumi dhe ceziumi, për arsye se ata janë elementë gjurmë në lëngjet biologjike.

Përparimi teknologjik, çoi në zhvillimin e një metode tjetër për matjen e elektroliteve në lëngjet biologjike, atë të elektrodave jono selektive të njohur me simbolikën ISE. Elektroda jono-selektive është një pajisje fiziko-kimike, e cila nga një bashkësi jonesh të pranishëm në një tretësirë zgjedh dhe reagon vetëm ndaj njërit prej tyre (IFCC, 1986).

Natyra e reagimit është elektrike dhe elektroda fiton një potencial elektrik. Madhësia e këtij potenciali është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e jonit.

Lidhja midis madhësisë së potencialit elektrik dhe përqëndrimit të jonit, jepet nga ekuacioni i Nernst-it, në formën e tij të modifikuar:

$$E - E_0 = S \log [C_{(x)} / C_{(s)}]$$

Për të bërë të mundur matjen praktike me anë të ekuacionit të Nernst-it, zgjidhet një metodë krahasuese, ku thelbi i kësaj metode ka të bëjë me përdorimin e tretësirave standarde me përqëndrim të njohur, të jonit që do të analizohet (Anker et al., 1981; Buckley et al., 1987; Fogh-Andersen et al., 1978; Frant, 1994; Koch, 1985).

Matja bëhet në dy faza:

Në fazën e parë, analizatori me elektrodë jono selektive mat potencialin që lind në elektrodë, kur kjo e fundit është në kontakt me tretësirën që analizohet.

Në fazën e dytë matet potenciali, që lind në elektrodën jono selektive, kur kjo e fundit bie në kontakt me tretësirën standarde me përqëndrim të njohur, të jonit që përcaktohet.

Analiza matematike tregon, që përqëndrimi i jonit të panjohur x , jepet me anë të formulës:

$$C_{(x)} = C_{(s)} * 10 [E - E_0] / S$$

ku:

E – potenciali elektrik, që lind në elektrodën jono-selektive, kur kjo e fundit bie në kontakt me tretësirën analitike me përqëndrimin x ;

E_0 – potenciali elektrik, që lind në elektrodën jono-selektive, kur kjo futet në tretësirën standarde;

S – pjerrësia e lakores së kalibrimit (elektrodë slope) e llogaritur gjatë procesit të kalibrimit;

$C_{(x)}$ – përqëndrimi i jonit, që analizohet në tretësirën biologjike;

$C_{(s)}$ - përqëndrimi i jonit me përqëndrim të njohur të tretësirës standarde;

N.q.s aparati me elektroda jono-selektive është i pajisur me një elektrodë jono-selektive për kalciumin e jonizuar dhe elektrodë për matjen e pH të gjakut që mat nga 7.2-7.6, ekziston një algoritëm matematik, i cili lejon të llogaritet përqëndrimi i kalciumit të jonizuar Ca^{+2} në $pH = 7.4$, që është pH fiziologjik normal.

Ky algoritëm është i instaluar në mikroprocesorin e aparatit.

Kjo bëhet e mundur me anë të formulës së mëposhtme mjaft e komplikuar:

$$nCa = Ca^{+2} (pH = x) * 10 \text{ Exp} [- 0.24 * (7.40 - x)]$$

Në këtë formulë marrin pjesë këta parametra:

x – pH i gjakut në momentin e matjes;

Ca^{+2} – përqëndrimi i kalciumit të jonizuar në gjak në momentin e matjes, kur pH i gjakut është x ;

Një analizator me elektroda jono-selektive minimalisht në kompletin e reagentëve të tij, ka tretësirën standarde A, tretësirën standarte B dhe tretësirën larëse (wash solution).

Tretësira standarde A, përmban elektrolitë me përqëndrime normale. Tretësira standarde B, përmban elektrolitë me përqëndrime patologjike.

Me anë të këtyre dy tretësirave standarde, ndërtohet lakorja e kalibrimit dhe përcaktohet slope i saj. Tretësira larëse është amonium bifluoride (Pesce & Kaplan, 1987).

Kapitulli III

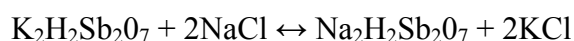
3. KRONOLOGJIA E METODAVE PËR MATJEN E ELEKTROLITËVE NË LËNGJET BIOLOGJIKE

3.1 METODAT E PËRCAKTIMIT TË NATRIUMIT

Për përcaktimin e natriumit në lëngjet biologjike janë përpunuar mjaft metoda analitike, kimike dhe fizike. Më kryesoret ndër këto metoda janë:

3.1.1 *Metodat me piroantimoniat*

Në këtë metodë, natriumi i pranishëm në materialin analitik, në tretësirë alkoolike kombinohet me piroantimoniatin, duke formuar një kripë të patretshme në tretësirë ujore. Kuptohet qartë, që kjo metodë analitike është një metodë precipitimi.



Pas dekantimit, në mënyrë gravimetrike përcaktohet përmbajtja e natriumit.

Variante të tjera të kësaj metode janë titrimi jodometrik i antimonit ose matja kolorimetrike e jodit në prani të jodurit.

3.1.2 *Metoda, që bazohen në teknikën e precipitimit, me metoksilfenilacetat*

Në këtë metodë natriumi i pranishëm në materialin analitik, hyn në reaksion me acidin α -metoksilfenilacetat, duke formuar një kripë të patretshme. Përqëndrimi i kësaj kripe është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e natriumit të pranishëm në materialin analitik. Përqëndrimi i kësaj kripe, përcaktohet me anë të titrimit alkaline. Metodat e precipitimit janë të gjata, kërkojnë mjaft reagentë kimikë dhe kërkojnë profesionalizëm në fushën e kimisë analitike klasike.

3.1.3 *Metodat kolorimetrike*

Metodat klasike kolorimetrike, të përcaktimit të natriumit në lëngjet analitike është ajo me zink uranil acetat. Në fazën e saj të parë, kjo metodë përdor teknikën e precipitimit, ku natriumi që përmbahet në materialin analitik, precipitohet në mënyrë sasiore me anë të kripos komplekse zink uranil acetat. Në fazën e dytë analitike, vlerësimi i sasisë së natriumit mund të bëhet me metodë gravimetrike, me titrim alkaline të acetatit ose me metodë kolorimetrike pas shtimit të ferrocianurit.

Një metodë më bashkëkohore kolorimetrike është ajo me acid violurik. Acidi violurik formon me disa katione metalike, ku bën pjesë dhe natriumi, një kompleks me ngjyrë blu, që njihet si violurati i natriumit. Intensiteti i ngjyrës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e natriumit në lëngun analitik (Burtis & Ashood, 1999; Leskoviku *et al.*, 1982; Lorentz, 1982).

3.1.4 Metodatat e analizës spektrale me rrezatim apo fotometria me flakë

Atomet e natriumit mund të ngacmohen lehtë fizikisht me energji nga jashtë. Gjatë këtij ngacmimi ata kalojnë në gjendje të ngacmuar. Kjo gjendje është e përkohshme dhe e paqëndrueshme. Në këtë gjendje atomet e natriumit qëndrojnë vetëm 10^{-8} sekonda. Më tej atomet e natriumit rikthehen në gjendjen e tyre normale. Gjatë kësaj dukurie atomet e natriumit çlirojnë energjinë e ngacmimit, në trajtën e një rrezatimi dritor me gjatësi vale 589.3 nm (dubleti i verdhë i natriumit).

Intensiteti i këtij rrezatimi është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e natriumit në materialin analitik.

Metoda klasike e eksitimit të atomeve të natriumit është energjia termike e flakës stekimometrike, të krijuar nga djegia e hidrokarbureve propan, butan, acetilen me oksigjenin e ajrit atmosferik. Për këtë arsye, metoda quhet fotometria me flakë dhe aparati matës spektral quhet fotometër me flakë .

Metoda e fotometrisë me flakë është e saktë, e shpejtë dhe ekonomike. Mangësia e saj lidhet me rreziqet që paraqesin gazet me presion, flaka me temperaturë të lartë deri në 2200°C dhe toksiciteti i hidrokarbureve.

3.1.5 Metoda e spektrofotometrisë së absorbimit atomik

Spektrofotometria e absorbimit atomik (AAS) është metoda etalon, për përcaktimin e natriumit në çdo fushë të shkencës. Metoda bazohet në ligjin e Kirhof-it. Sipas këtij ligji të fizikës, çdo atom në gjendje energjitike natyrale, përthith (absorbon) atë rrezatim elektromagnetik që ai rrezaton, kur ngacmohet me energji nga jashtë. Madhësia e përthithjes ($A = \log I_0/I$) është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e atomeve të natriumit në tretësirën që analizohet.

Metoda është më e saktë, por çmimi i lartë i aparaturës, pengon përdorimin e saj në masë të gjerë (Tielz, 1976; Pesce & Kaplan, 1987) .

3.1.6 Metoda me elektroda jono-selektive

Në kohët e sotme, metoda më e preferuar për të matur natriumin, sidomos në lëngjet biologjike, është metoda me elektroda jono-selektive (ISE).

Elektroda jono-selektive është një pajisje fiziko-kimike, e cila nga një bashkësi jonesh të pranishme në një tretësirë, zgjedh dhe reagon vetëm ndaj njërit prej tyre.

Natyra e reagimit është elektrike dhe elektroda fiton një potencial elektrik. Madhësia e këtij potenciali është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e jonit.

Lidhja midis madhësisë së potencialit elektrik dhe përqëndrimit të jonit, jepet nga ekuacioni i Nernst-it, si më poshtë vijon:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln [c_j]$$

E – potenciali elektrik, që lind në elektrodë;

E_0 – konstantja e elektrodës jono-selektive;

R – konstantja universale e gazeve;

T – temperatura absolute e mjedisit analitik;

n – valenca e natriumit;

F- konstantja e Faradeit, 96 500 kulon;
 c_j – përqëndrimi i jonit;

3.2 METODAT E PËRCAKTIMIT TË KALIUMIT

Për përcaktimin e kaliumit në tretësirat analitike në përgjithësi dhe në ato biologjike në veçanti, janë përpunuar disa metoda analitike, nga të cilat më të rëndësishmet janë:

3.2.1 Metoda turbidimetrike e analizës

Në këtë metodë, kaliumi i pranishëm në materialin analitik, në mjedis me pH të lehtë alkaline, hyn në reaksion me tetrafenilboratin duke formuar një kompleks të turbullt. Intensiteti i turbullirës i matur me metodë fotometrike, në pjesën e kuqe të spektrit të dukshëm, është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e kaliumit në materialin analitik. Gjatësitë e valëve më të përshtatshme për matje janë 600, 610, 620 dhe 630 nm.

3.2.2 Metoda e fotometrisë me flakë

Kjo metodë, e bazuar në analizën spektrale të rrezatimit, shërben për të matur kaliumin në tretësira të ndryshme analitike. Gjithçka është e ngjashme me përcaktimin e natriumit, me anë të kësaj metode.

3.2.3 Metoda me elektroda jono–selektive

Përcaktimi i kaliumit me metodë jono-selektive, bazohet në principin e potenciometrisë. Në këtë metodë matet voltazhi elektrik, që lind midis elektrodës jono-selektive të kaliumit dhe elektrodës së referencës, potenciali i së cilës nuk varet aspak nga përqëndrimi i joneve të kaliumit, në tretësirën që analizohet.

Elektroda jono-selektive e kaliumit, përdor një membranë valinomicine, për të eliminuar në mënyrë efektive, ndikimin e natriumit dhe interferencat e joneve të tjerë.

3.2.4 Metoda e spektrofotometrisë me absorbim atomik

Kjo metodë është metoda etalon për matjen e kaliumit, në çdo tretësirë analitike, e njëjtë kjo me rastin e natriumit (Tielz, 1976; Pesce & Kaplan, 1987; Goxharaj et al., 2012).

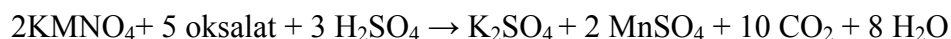
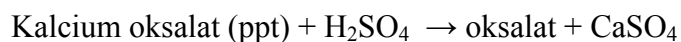
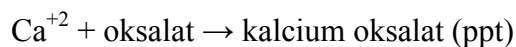
3.3 METODAT E PËRCAKTIMIT TË KALCIUMIT

3.3.1 Metoda e precipitimit

Në metodat klasike të precipitimit, të përpunuara nga Clark dhe Collip, kaliumi precipitohet në trajtën e oksalatit të kaliumit. Me anë të acidifikimit, oksalati i kaliumit tretet duke çliruar acid oksalik. Më pas tretësira analitike trajtohet me permanganat kaliumi. Grupi i formuar $Mn_2O_7^{-2}$ reduktohet në Mn^{+2} duke dhënë një kompleks të ngjyrosur.

Intensiteti i ngjyrës apo madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë, me përqëndrimin e kalciumit në tretësirën, që analizohet.

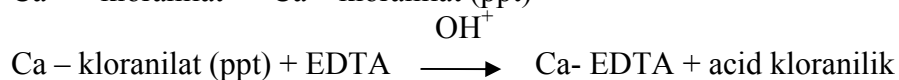
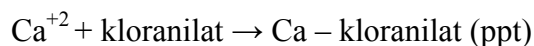
Ekuacionet e reaksioneve të kësaj metode analitike janë si vijon:



Kjo metodë është metodë e gjatë dhe përdoret rrallë në praktikën analitike.

Një metodë tjetër precipitimi është ajo, që përdor acidin kloranilik. Ky acid, hyn në reaksion me kalciumin, duke formuar kompleksin kalcium-kloranilat. Precipitati i formuar ritretet me EDTA duke çliruar acidin kloranilik dhe duke formuar një kompleks, të ngjyrosur me ngjyrë të kuqe në purpur, i cili mund të matet në mënyrë spektrofotometrike.

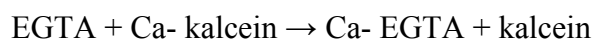
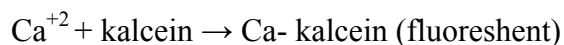
Ekuacionet e procedurës janë si më poshtë:



3.3.2 Metoda analitike me fluoreshencë

Metodat e fluoreshencës, për përcaktimin e kalciumit, dallohen nga një ndjeshmëri e mirë. Në këtë metodë kalciumi i pranishëm në tretësirën analitike, në mjedis alkalin reagon me kompleksin kalceinë, duke formuar kompleksin fluoreshent kalcium-kalceinë. Titrimit me EGTA, lidh kalciumin në trajtën e një kelati duke shkaktuar uljen e fluoreshencës. Sasia e EGTA e përdorur për titrim, deri në zhdukjen e fluoreshencës, është në përpjesëtim të drejtë, me sasinë e kalciumit të pranishëm në tretësirën që analizohet.

Ekuacionet e reaksionit analitik janë:



3.3.3 Metodat kolorimetrike (End-Point) për matjen e kalciumit në lëngjet biologjike

Për përcaktimin e kalciumit në lëngjet biologjike metoda më e përdorshme është ajo kolorimetrike.

Ka tre metoda kolorimerike për të përcaktuar Ca në lëngjet biologjike:

- Metoda me o-krezolftaleinë (OCPC)
- Metoda me arsenazo III
- Metoda me metiltimolblu (MTB)

Nga këto 3 metoda kolorimetrike për përcaktimin e Ca në lëngjet biologjike, më e përdorura aktualisht është metoda me o-krezolftaleinë (Gindler & King, 1972; Lorentz, 1982).

Në këtë metodë kalciumi i pranishëm në materialin analitik, hyn në reaksion me o-krezolftaleinën dhe formon një kompleks të aftë, që të japë ngjyrë. Ky kompleks në mjedis alkalik jep një ngjyrë të kuqe, që ka një maksimum absorbimi, në gjatësinë e valës 578 nm. Intensiteti i ngjyrës (madhësia e absorbancës) është në përpjesëtim të drejtë, me përqëndrimin e kalciumit, në materialin që analizohet.

Ekuacioni i reaksionit analitik është:



Në reaksionin analitik shtohet 8-Hydroxyquinoline, për të eliminuar interferencën e kationeve të tjerë, sidomos të magneziumit

Metoda të tjera kolorimetrike për përcaktimin e kalciumit janë metoda me indikatorin arsenazo III dhe MTB (Winter, 1981).

3.3.4 Metodat e spektrofotometrisë me absorbim atomik

Është metoda etalon, për të matur përqëndrimin e kalciumit në çdo lloj tretësire analitike (Marshall, 1998).

3.3.5 Metoda me elektrodë jono-selektive

Metoda me elektrodë jono-selektive, përdoret për të matur aktivitetin e kalciumit të jonizuar në lëngjet biologjike (Barnett et al., 1973; Kolpepaj & Buzo 2007; Goxharaj et al., 2012).

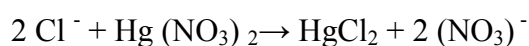
Elektroda për matjen e kalciumit të jonizuar është përbërë nga fosfate organike ose shkëmbyes të tjerë jonikë me përbërje organike, të cilët bëjnë të mundur, që elektroda jono-selektive, të reagojë vetëm ndaj joneve aktivë të kalciumit Ca^{+2} .

3.4 METODAT E PËRCAKTIMIT TË KLORIT

3.4.1 Metoda titrimetrike për përcaktimin e klorureve

Kjo metodë, që njihet me emrin si metoda e Schales, përdor $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, për të titruar acidin tungstik, në prani të difenilcarbazonit (DPC) si indikator.

Reaksionet analitike që ndodhin jepen në reaksionet e mëposhtme:



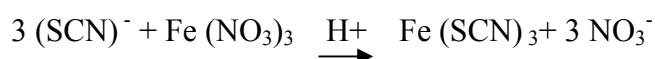
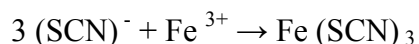
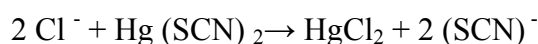
Jonet e lira të mërkurit kombinohen me Cl^- , duke formuar HgCl_2 të patretshëm. Pas titrimit të plotë të joneve Cl^- , teprica e joneve Hg^{+2} kombinohet me DPC duke formuar një kompleks blu-violet, gjë që tregon pikën fundore të titrimit.

Kjo metodë ka disa mangësi, pasi ndikohet nga prania e proteinave, bilirubinës, hemoliza dhe niveli i lartë i yndyrnave. Faktorët e mësipërm ndikojnë negativisht në përcaktimin e pikës fundore nga analisti, gjatë titrimit (Barbolani et al., 1981).

3.4.2 Metoda kolorimetrike

Në këtë metodë, për përcaktimin e klorureve përdoret tiocianati ferrik dhe tiocianati i mërkurit.

Reaksioni analitik zhvillohet sipas ekuacioneve të mëposhtme:

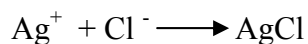


Jonet klor Cl^- , të pranishëm në materialin biologjik, hyjnë në reaksion me tiocianatin e mërkurit duke çliruar jonet tiocianat. Jonet tiocianat në prani të hekurit 3 valent Fe^{3+} , formojnë tiocianatin ferrik me ngjyrë të kuqe.

Intensiteti i ngjyrës (apo madhësia e absorbancës) mund të vlerësohet në mënyrë fotometrike, pasi ka një maksimum absorbimi në gjatësinë e valës 525 nm. (pjesa e gjelbër e spektrit të dukshëm).

3.4.3 Metodat e titrimit kulometrik–amperometrik

Kjo metodë për përcaktimin e klorureve i takon analizës instrumentale. Aparatura matëse ka dy qarqe elektrike të veçuar nga njëri-tjetri. Qarku kulometrik gjeneron jone argjend Ag^+ nga një elektrodë argjendi. Jonet e argjendit hyjnë në reaksion me kloruret duke formuar klorur argjendi AgCl , i cili është i patretshëm.



Qarku i indikatorit amperometrik përdor dy elektroda, të cilat dedektojnë (masin) një rrymë elektrike që rritet. Kjo rrymë elektrike krijohet nga jonet e lira të argjendit Ag^+ . Këto jone të lira argjendi Ag^+ , krijohen pas titrimit komplet të klorureve Cl^- në tretësirën, që analizohet. Përqëndrimi i klorureve Cl^- në tretësirën që analizohet, është në përpjesëtim të drejtë me kohën e nevojshme, për të gjeneruar sasinë e joneve argjend Ag^+ , që duhen për të titruar klorin Cl^- .

3.4.4 Metoda me elektroda jono-selektive

Në këtë metodë përdoret një elektrodë e posaçme për të matur kloruret Cl⁻. Kjo elektrodë përmban si element të ndjeshëm një kristal të përbërë nga kloruri i argjendit dhe sulfidi i argjendit.

Metoda është e saktë dhe e thjeshtë në përdorim. Ajo mund të aplikohet gjithashtu dhe në aparate automatike analitike (Leskoviku et al., 1982).

3.5 METODAT E PËRCAKTIMIT TË FOSFATEVE

Shumë metoda për matjen e fosfateve inorganike janë modifikime të metodës origjinale të Fiske dhe Subbarrow. Parimi i metodës bazohet në formimin e një kompleksi të joneve fosfat PO₄³⁻ dhe molibdatit.

Matja e fosforit inorganik në serum zakonisht kalon në dy faza analitike:

- Në fazën e parë formohen komplekset e fosfomolibdatit;
- Në fazën e dytë reduktohen komplekset e fosfomolibdatit, në kompleksin e molibdenit me ngjyrë blu;

Metodat aktualisht në përdorim, përdorin si reagentë reduktues:

- Klorurin e kallajit;
- Fenilhidrazinën;
- Acidin aminonaftol sulfonik;
- Acidin askorbik;
- p- metilaminofenolsulfatin;
- etj;

Këto metoda në fakt paraqesin një paqëndrueshmëri të ngjyrës, kërkojnë deproteinizim dhe performanca e tyre është komplekse. Shtimi në reagentin e punës të një surfactanti shmang nevojën e përdorimit të filtratit të deproteinizuar, përshpejton formimin e ngjyrës, stabilizon ngjyrën dhe thjeshtëzon procedurën analitike.

Për përcaktimin e fosforit organik në lëngjet biologjike metoda më e përdorshme është ajo (fotometrike) kolorimetrike. Në këtë metodë, fosfatet inorganike të pranishme në materialin biologjik, hyjnë në reaksion me molibdatin e amoniumit dhe në mjedis acid formojnë një kompleks heteropoliacid.

Prania e acidit sulfurik eliminon nevojën e përgatitjes të një filtrati analitik, pa praninë e proteinave. Kompleksi analitik ka një maksimum absorbimi në 340 nm. Madhësia e absorbimit është në përpjesëtim të drejtë, me përqëndrimin e fosfateve në materialin biologjik analitik.

Skema e reaksionit analitik është:

Fosfori organik + Amonium molibdat $\xrightarrow{H_2SO_4}$ Kompleksi fosfomolibdati heteroacid
(Buzo, 1993; Leskoviku et al., 1982).

3.6 METODAT E PËRCAKTIMIT TË MAGNEZIT

3.6.1 Metodatat e spektrofotometrisë me absorbim atomik

Metoda etalon për të matur Mg është spektrofotometria me absorbim atomik (SAA). Në praktikën mjekësore spektrofotometria me absorbim atomik përdoret shumë rrallë, sepse aparatura ka kosto të lartë dhe kërkon, jo vetëm kushte speciale për matje, por dhe një shkallë profesionalizmi të lartë.

Një gjë e tillë ka sjellë si domosdoshmëri përdorimin e teknikave alternative fotometrike, të bazuara në fotometrin e programueshëm ose në autoanalizatorët biokimikë.

3.6.2 Metodatat kolorimetrike (End-Point) për matjen e magnezit në lëngjet biologjike

Duke qenë se përcaktimi i Mg sot është analizë rutinë, është përpunuar metoda End-Point për përcaktimin e tij në serum, plazmën e gjakut dhe në urinën e 24 orëve.

3.6.2.1 Metoda kolorimetrike me reagentin xylidyl blu

Në këtë metodë jonet e magnezit të pranishme në materialin biologjik (serum apo urinë), në mjedis alkalin, hyjnë në reaksion me reagentin xylidyl blu, duke formuar një kompleks të ngjyrosur, i cili ka një maksimum absorbimi në pjesën e gjelbër të spektrit të dukshëm, kryesisht në $\lambda = 505$ nm.

Intensiteti i ngjyrës apo madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e joneve magnez, që përmbahen në tretësirën analitike.

3.6.2.2 Metoda kolorimetrike me calmagit

Metoda analitike është kolorimetrike, ku kromogjeni është calmagiti dhe është në thelb metodë End-Point.

Si parim, magnezi i pranishëm në materialin biologjik, reagon me calmagitin në mjedis alkalin duke dhënë një kompleks të ngjyrosur, i cili ka një maksimum absorbimi në pjesën e gjelbër të spektrit të dukshëm, në brezin spektral 500-510 nm (Elin, 1988).

PJESA EKSPERIMENTALE

Kapitulli I

PËRZGJEDHJA E METODAVE FOTOMETRIKE PËR PËRCAKTIMIN E ELEKTROLITËVE NË LËNGJET BIOLOGJIKE, NË KUSHTET E LABORATORËVE TANË

1. KALIUMI

1.1 Studimi i metodës fotometrike, për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike

Kaliumi është një nga elektrolitët më të rëndësishëm në praktikën mjekësore. Përcaktimi i tij është i nevojshëm për diagnostifikim dhe monitorim mjekimi, në shumicën e disiplinave mjekësore.

Përcaktimi i kaliumit në lëngjet biologjike është i domosdoshëm, si në praktikën spitalore ashtu dhe në praktikën mjekësore ambulatorë.

Në punimin tonë kemi studiuar metodën fotometrike-turbidimetrike, për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike. Kemi zgjedhur këtë metodë, për arsyen e thjeshtë, se ajo nuk kërkon aparatura speciale matëse dhe për rrjedhojë mund të përdoret dhe në laboratorët e vegjël, që i shërbejnë shërbimit ambulator.

Për të realizuar praktikisht punimin zgjedhëm metodën fotometrike-turbidimetrike me natrium tetrafenilborat. U punua me një kit komercial të firmës FUTURA SYSTEM S.r.l (Italy).

1.1.1 Parimi i metodës

Kaliumi i pranishëm në materialin biologjik, në mjedis analitik alkaline, hyn në reaksion me tetrafenilboratin e natriumit, duke dhënë një kompleks me veti turbidimetrike.

Turbullira analitike e formuar, pas reaksionit matet në një gjatësi vale, që i takon pjesës së kuqe të spektrit të dukshëm.

Madhësia e absorbancës së matur, është në përpjesëtim të drejtë, me përqëndrimin e kaliumit të pranishëm në mostrën analitike.

1.1.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur

- **Reagenti analitik**

Buffer Tris pH 7.5	50 mmol/l
Natriumtetrafenilborat	102 mmol/l
Acid borik	258 mmol/l

Reagenti është në gjendje të lëngët, i gatshëm për punë.

- **Standardi (kalibrator)**

Klorur kaliumi(KCl) 5 mmol/l

1.1.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit

Reagenti analitik është i qëndrueshëm deri në datën e skadencës, të shënuar në etiketën e kitit, nëse mbahet i mbyllur mirë në temperaturën e dhomës, ndërsa standardi këshillohet të mbahet i mbyllur mirë, në frigorifer, në temperaturë 2-8°C.

1.1.4 Përgatitja e reagentit të punës

Përpara përdorimit, reagenti analitik në gjendje të lëngët, i gatshëm për punë, përzihet mirë, ndërsa standardi nxirret 30 minuta përpara nga frigoriferi, që të marrë temperaturën e ambientit.

1.1.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë

- Serum i freskët
- Plazëm e heparinizuar
- Porcion urine
- Urinë e 24 orëve

1.1.6 Metodika analitike

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	25 µl	-----	-----
Standard	-----	25 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	25 µl
Reagent analitik	1 ml	1 ml	1 ml

Të tre tubat përzihen mirë dhe lihen për inkubim 5 min, në temperaturë ambiente. Maten absorbancat në një gjatësi vale, që ndodhet në pjesën e kuqe të spektrit të dukshëm, me preferencë brezin spektral 630-640 nm.

Reaksioni analitik është i qëndrueshëm deri në 30 minuta, pas përfundimit të kohës së inkubimit.

1.1.7 Llogaritja e rezultatit të analizës

$$\text{Kaliumi (mmol/l)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}}$$

1.1.8 Vlerat normale të kitit analitik

Serum apo plazmë e heparinizuar

3.6 mmol/l – 5.5 mmol/l

1.2 Studimi eksperimental i metodës me natrium tetrafenilborat, për përcaktimin e kaliumit, në kushtet e laboratorëve tanë.

Për të verifikuar metodën fotometrike–turbidimetrike të përcaktimit të kaliumit, përzgjedhëm kitin analitik të firmës FUTURA, me numër reference REF. N° 3502 me certifikatë të CE.

Matjet u kryen me fotometrën BTS 310 PLUS, i firmës Byosystems, Spanjë.

U zgjodh ky fotometër, për arsyen e thjeshtë, se është fotometër i programueshëm, më i përhapur në laboratorët e vegjël dhe të mesëm të vendit tonë.

Megjithatë, mund të përdoret çdo lloj fotometri, i aftë për të matur absorbancën në pjesën e dukshme të spektrit të rrezatimeve.

Elementët e programit analitik për matjen e kaliumit, në fotometrën BTS 310 PLUS janë:

• Metoda analitike	End-Point me standard
• Njësia matëse	mmol/l
• Filtri i matjes	630 nm
• Zerimi i fotometrit	kundrejt H ₂ O destile
• Standardi	5 mmol/l
• Koha e leximit	5 sekonda
• Temperatura e matjes	37°C
• Kyveta e matjes	1 cm
• Volumi i thithjes	900 µl
• Drejtimi i reaksionit	slope pozitiv
• Leximi optik	Monokromatik

Si metodë referente, për t'u krahasuar me metodën fotometrike-turbidimetrike, zgjedhëm metodën me elektroda jono-selektive, aktualisht më e preferuara për nga saktësia dhe shpejtësia e matjeve, por me kosto të lartë ekonomike, sidomos për laboratorët e vegjël.

Aparati matës, ku u realizua kjo metodë, është elektrolitmetri Sino 005 i kompanisë SINOVA, KINË.

Si material biologjik, u përdor serum i gjakut. U zgjedhën 20 subjekte të shëndoshë, pa sëmundje të veshkave dhe zembrës dhe që nuk përdorin preparate diuretike.

Skema eksperimentale është si më poshtë vijon:

- U përftua serum i gjakut të 20 pacientëve të shëndoshë, gjaku i të cilëve u mor në tuba me xhel apo në tub me sfera dhe serum i gjakut u sigurua me centrifugim për 5 minuta, në 5000 rrotullime/minutë, sipas teknikës standarde;
- Pas përftimit të serumit, matjet u kryen brenda 30 minutave, për të shmangur efektin “shift” të cilit i nënshtrohet kaliumi;
- U përdor kiti analitik i firmës FUTURA System për përcaktimin e kaliumit, me metodat e mësipërme;
- Matjet u bënë me fotometrën e programueshëm BTS 310 PLUS i firmës Byosystems, Spanjë, për përcaktimin e kaliumit me metodën fotometrike turbidimetrike;

- Matjet u bënë me elektrolitmetrin Sino 005 i kompanisë SINOVA, KINË, për përcaktimin e kaliumit me metodën me elektroda jono-selektive;
- Të dhënat e fituara, u përpunuan nga këndvështrimi matematiko-statistikor. U llogarit mesatarja aritmetike \bar{x} , shmangia standarde (SD ose σ), koeficienti i korrelacionit, ekuacioni i regresionit dhe T- testi;

Tabela 1.1. Krahasimi statistikor i rezultateve të kaliumit me metodë fotometrike dhe ISE

Metoda e matjes	Numri i matjeve n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Ekuacioni i regresionit
Metoda fotometrike turbidimetrike (y)	20	4.39	0.6062	Y=0.9464x+0.1608
Metoda me elektroda jono-selektive (x)	20	4.470	0.6368	K(Turb)= 0.9464K(ISE) +0.1608

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
Kaliumi me ISE	20	89.3	4.465	0.406
Kaliumi me Turbidimetri	20	87.73	4.3865	0.367

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.062	1	0.062	0.159	0.692	4.098
Within Groups	14.687	38	0.386			
Total	14.748	39				

Nga tabela e mësipërme shikojmë që $F_{\text{llogaritur}} = 0.159 < F_{\text{Kritike}} = 4.098$ si dhe $p = 0.692 > 0.05$, pra nuk ka ndryshime të rëndësishme ndërmjet shmangieve standarde të dy metodave.

Tabela 1.2. Krahasimi i rezultateve të kaliumit me metodë fotometrike-turbidimetrike dhe elektrodë jono-selektive

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

Kaliumi	ISE	Turbidimetri
Mean	4.465	4.387
Variance	0.406	0.367
Observations	20	20
Hypothesized Mean Difference	0	
df	38	
t Stat	0.399	
P(T<=t) one-tail	0.346	
t Critical one-tail	1.686	
P(T<=t) two-tail	0.692	
t Critical two-tail	2.024	

Nga të dhënat e tabelës 1.2, shihet qartë që nuk ka asnjë ndryshim statistikor sinjifikativ midis vlerave mesatare të kaliumit, të marrë me të dy metodat, me metodë fotometrike- turbidimetrike dhe elektrodë jono-selektive, për një nivel besueshmërie 95%.

Kjo do të thotë, që për sa i përket saktësisë së matjes së kaliumit në serum in e gjakut, të dyja metodat janë të njëvlershme.

Matematikisht kjo vërtetohet dhe nga testi i studentit, T-testi, ku $t_{\text{statistikore}} = 0.40$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 2.02$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$.

Gjithashtu $p = 0.692 > 0.05$.

Koeficienti i korrelacionit është $r = 0.9943$, $r^2 = 0.9886$, gjë që tregon që për matjen e kaliumit në serum in e gjakut, metodat e lartpërmendura kanë një korrelacion shumë të mirë me njëra tjetrën.

Si përfundim mund të themi se n.q.s metodat zbatohen, në përputhje me kushtet e tyre teknologjike dhe analitike, rezultatet janë të njëjta.

Në një studim të kryer nga kompania FUTURA SYSTEM S.r.l, duke matur përmbajtjen e kaliumit në 20 pacientë të shëndoshë, me metodën fotometrike-turbidimetrike (y) dhe me elektrodë jono-selektive (x), koeficienti i korrelacionit është gjetur $r = 0.9829$, shumë i përafërt me atë të gjetur në kushtet e laboratorëve tanë (Futura System. Rev. 004. December 2010).

Në tabelën 1.3, jepet krahasimi i të dhënave të studimit tonë, me atë të publikuar nga kompania FUTURA SYSTEM S.r.l, prodhuese e kitit turbidimetrik me natrium tetrafenilborat, me numër katalogu REF. N° 3502.

Tabela 1.3. Krahasimi i të dhënave të studimit tonë, me të dhënat e studimit të kompanisë FUTURA

	Koeficienti i korrelacionit	Ekuacioni i regresionit
Krahasimi i metodave në studimin tonë	0.9943	Y= 0.9464x + 0.1608 K(Turb) = 0.9464 K(ISE) + 0.1608
Krahasimi i metodave në studimin e kompanisë FUTURA	0.9828	Y= 0.9748x + 0.162 K(Turb) = 0.9748 K(ISE) + 0.162

Analiza e të dhënave të tabelës 1.3, dëshmon qartë për njëvlershmërinë e dy metodave të studiuara.

1.3 Studimi i kufirit të linearitetit për metodën fotometrike-turbidimetrike me natrium tetrafenilborat e vlefshme për përcaktimin e kaliumit në lëngjet biologjike

Një nga parametrat më të rëndësishëm të metodës End-Point me standard (metodës kolorimetrike sasiore), është kufiri (limiti) i linearitetit. Kufiri i linearitetit është përqëndrimi maksimal i elementit që analizohet, për të cilin respektohet ligji i Lambert-Beer.

Me pak fjalë, ai përfaqëson kufirin e sipërm, të segmentit të përqëndrimeve, për të cilët madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin dhe mund të zbatohet formula:

$$C_{\text{analizës}} = \frac{C_{\text{standardit}}}{\text{Abs Standardit} - \text{Abs Blankut}} * (\text{Abs Analizës} - \text{Abs Blankut})$$

Përqëndrimi i kaliumit, në serumin e pacientëve të shëndoshë sipas literaturës, ndryshon nga 3.5 mmol/l në 5.3 mmol/l.

Në kushte patologjike, në varësi të sëmundjes, përqëndrimi i kaliumit në serum ndryshon nga 1 mmol/l në 3.4 mmol/l (hipokalemi) dhe 5.6 mmol/l në 8 mmol/l (hiperkalemi).

Ulja e kaliumit nën 1 mmol/l dhe rritja e tij mbi 8 mmol/l është e papajtueshme me jetën.

Për të studiuar kufirin e linearitetit të metodës turbidimetrike të përdorur, përgatitëm një seri tretësirash standarde, me përqëndrime të kaliumit, që ndryshonin nga 0 mmol/l në 9 mmol/l.

Për të përgatitur serinë e tretësirave standarde u përdor klorur kaliumi KCl, i firmës Merck, i tharë në 37°C në termostad deri në peshë konstante. Tretësirat standarde u përgatitën duke përdorur si tretës, ujë të dejonizuar. Tretësirat standarde u punuan në bazë të metodikës së përshkruar dhe matjet u kryen në fotometrin e programueshëm BTS 310 PLUS, në programin e kaliumit, i cili siguron matje me besueshmëri shumë të lartë deri në vlerën 2 të absorbancës.

Të dhënat e fituara nga matjet e kryera jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.4. Studimi i kufirit të linearitetit, për kitin turbidimetrik me natrium tetrafenilborat, të firmës FUTURA, për matjen e kaliumit

C mmol/l	0	0.25	0.5	1	2.5	5	6	7	8	9
Abs e matur	0.055	0.114	0.120	0.176	0.337	0.559	0.667	0.766	0.865	0.964

Me të dhënat e tabelës 1.4, ndërtohet grafiku i funksionit $y = f(x)$, duke vendosur në boshtin horizontal përqëndrimet dhe në atë vertikal absorbancat e matura përkatëse.

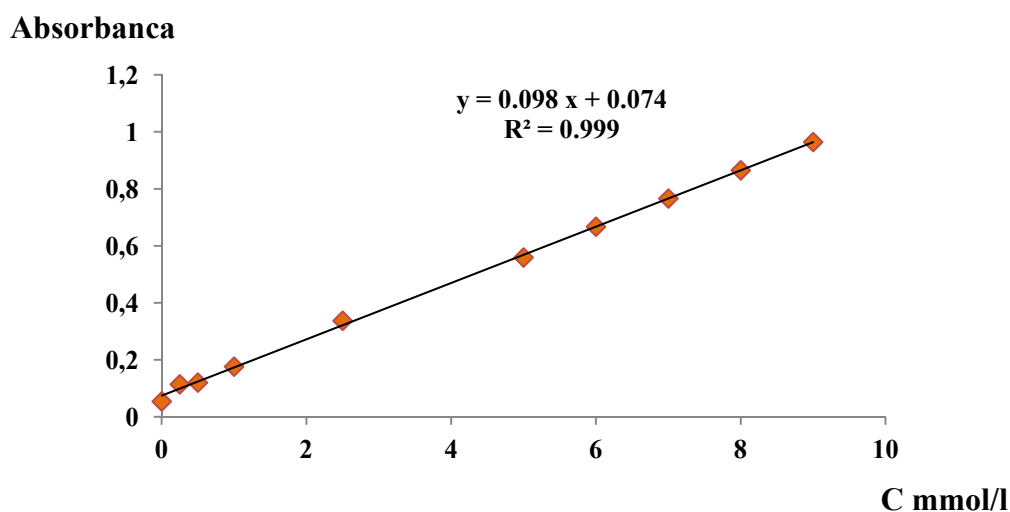


Figura 1.1. Studimi i kufirit të linearitetit për metodën fotometrike-turbidimetrike, të përcaktimit të kaliumit me natrium tetrafenilborat

Të dhënat e tabelës 1.4 dhe grafikut 1.1, tregojnë që metoda e studiuar është lineare, deri në 9 mmol/l.

Në grafikun, i cili përfitohet nga të gjitha të dhënat e tabelës së mësipërme, ekuacioni i drejtëzës është i formës:

$$y = 0.098x + 0.074 \text{ dhe } R^2 = 0.999$$

Për përcaktimet e kaliumit në serum apo plazmën e gjakut ky kufi lineariteti është i mjaftueshëm, pasi në asnjë patologji përqëndrimi i kaliumit në serum apo në plazëm, nuk mund të kalojë përqëndrimin 8 mmol/l, pasi ky përqëndrim është i papajtueshëm me jetën.

E kundërta qëndron për përcaktimin e kaliumit në urinën e 24 orëve. Një njeri normal, në urinën e 24 orëve ekskretion 30 mmol deri 90 mmol kalium.

Kjo do të thotë, që përqëndrimet normale të kaliumit në urinë, e kalojnë minimalisht 3 herë kufirin e linearitetit të metodës.

Për këtë arsye, për matjen e kaliumit në urinën e 24 orëve është e domosdoshme përdorimi i teknikës së hollimit. Për matjen e nivelit të kaliumit në urinën e 24 orëve, shkalla më e përshtatshme e hollimit është 1:10.

1.4 Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm

Dihet se vlerat normale të kaliumit në serum ose plazëm, me metodën turbidimetrike me natrium tetrafenilborat janë 3.5 mmol/l - 5.3 mmol/l.

Vlera minimale e kaliumit e pajtueshme me jetën është 1 mmol/l ndërsa vlera maksimale e kaliumit e pajtueshme me jetën është 8 mmol/l.

Kufiri i diktimit i një analiti përkufizohet si përqëndrimi që jep një sinjal analitik (y), statistikisht i ndryshëm nga sinjali i provës së bardhë apo sinjali i sfondit. (Baraj & Shehu, 2012).

$$y - y_B = 3 S_B$$

ku:

y → është sinjali i kufirit të diktimit

y_B → është sinjali i provës së bardhë

S_B → është shmangia standarde e provës së bardhë

Konkretisht nga matja 20 herë e provës së bardhë, me fotometër BTS 310 PLUS, në gjatësinë e valës 600 nm, rezulton që $y_B = 0.055$ dhe Shmangia standarde = 0.008.

Sinjali i kufirit të diktimit është $y = 0.079$

Kufiri i diktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.098 x + 0.074$ do të jetë:

$$KD = 0.05 \text{ mmol/l}$$

Kufiri i përcaktimit i një analiti përkufizohet si kufiri më i ulët i përqëndrimit ku mund të kryhen përcaktime sasiore të sakta.

$$y = y_B + 10 S_B$$

Sinjali i kufirit të përcaktimit është $y = 0.135$

Kufiri i përcaktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.098 x + 0.074$ do të jetë:

$$KP = 0.62 \text{ mmol/l}$$

Ndjeshmëria e një metode përcaktohet nga pjerrësia e lakores së kalibrimit dhe nëse kurba është lineare mund të matet në çdo pikë të saj.

Nga ekuacioni i mësipërm $y = 0.098 x + 0.074$ rezulton se ndjeshmëria e metodës turbidimetrike të përcaktimit të kaliumit me natrium tetrafenilborat është 0.098 mmol/l.

Nga llogaritjet e mësipërme vërehet se në të gjitha rastet përfshihet intervali patologjik i ndryshimit të kaliumit.

1.5 Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e kaliumit me metodë fotometrike turbidimetrike dhe elektrodë jono-selektive

Që një metodë analitike, të jetë e besueshme është e nevojshme, që ajo të ketë përsëritshmëri të mirë.

Një ndër metodat për të studiuar përsëritshmërinë është përcaktimi i saktësisë brenda serisë.

Për të realizuar këtë qëllim, përzgjidhet një standard i certifikuar apo një serum kontrolli, me vlerë të njohur, të elementit që studiohet, të matur me një nga metodat analitike të referencës.

Ne përzgjedhëm një serum kontrolli, me vlera normale, Duna Count N, Lot 12335, i firmës Diagnosticum. Përqëndrimi i kaliumit në këtë serum kontrolli është 4.20 mmol/l ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 3.82-4.50 mmol/l.

Duke përdorur këtë serum, u bënë 20 matje paralele të kaliumit duke aplikuar metodën me elektrodë jono-selektive dhe aparatin elektrolitmetër ISE SINO 005.

Këto të dhëna u përpunuan nga pikëpamja matematiko statistikore, duke llogaritur vlerën mesatare \bar{x} , shmangia standarde SD (σ), koeficientin e variacionit C.V % si dhe duke ndërtuar diagramin e kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e përpunuara statistikiisht jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.5. Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e kaliumit me metodë me elektrodë jono-selektive

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
ISE Aparati SINO 005	20	4.24	0.06	1.31	< 10

Kaliumi (mmol/l)

Mean	4.24
Median	4.23
Standard Deviation	0.06
Sample Variance	0.003
Minimum	4.16
Maximum	4.35
Count	20
Confidence Level (95.0%)	0.03
Koeficienti i variacionit %	1.31

Nga të dhënat e tabelës 1.5, shihet qartë, që koeficienti i variacionit C.V është 1.31 %.

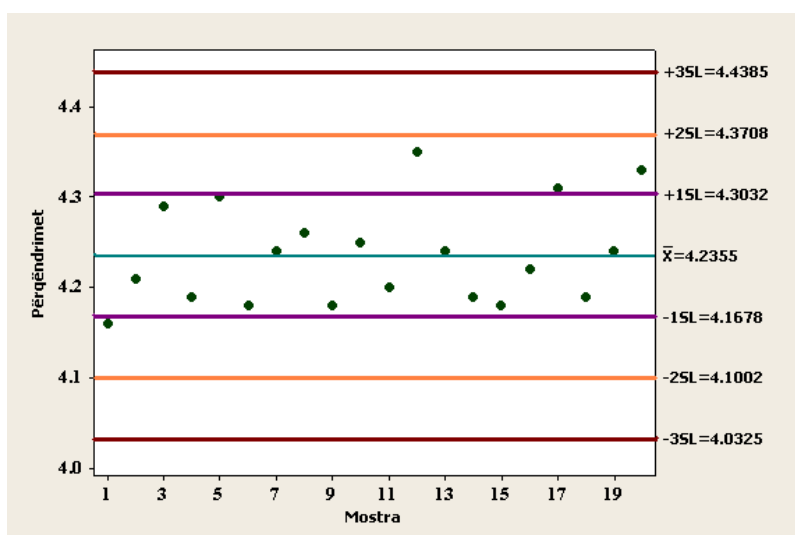


Figura 1.2. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 80% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 20% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm 2SL), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Në laboratorët mjekësorë, një metodë konsiderohet me përsëritshmëri të mirë, kur koeficienti i variacionit, në matjet paralele brenda serisë është më i vogël se sa 10%.

Si përfundim mund të themi, që matja e kaliumit me teknikën ISE, duke përdorur elektrolitmetrin SINO 005, është e besueshme për t'u përdorur si metodë krahasuese.

Krahas studimit të saktësisë brenda serisë për matjen e kaliumit në elektrodë jono-selektive u studiuua dhe saktësia brenda serisë për matjen e kaliumit me metodë fotometrike-turbidimetrike.

Matjet u kryen me 20 paralele në një serum kontrolli, Biochemistry control serum, Level N, LOT 157A. Përqëndrimi i kaliumit në këtë serum kontrolli është 3.7 mmol/l ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 2.9-4.5 mmol/l .

Kiti analitik për matjen e kaliumit me metodë turbidimetrike ishte i firmës FUTURA SYSTEM S.r.l. REF N° 3502. Matjet u realizuan me fotometrin e programueshëm BTS 310 PLUS.

Të dhënat e fituara u përpunuan nga pikëpamja matematiko-statistikore, duke llogaritur vlerën mesatare \bar{x} , shmangia standarde S D (σ), koeficientin e variacionit C.V % si dhe duke ndërtuar diagramin e kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e fituara në këtë pjesë të studimit, jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.6. Studimi i saktësisë brenda serisë, për matjen e kaliumit me metodën fotometrike-turbidimetrike, me natrium tetrafenilborat

Kaliumi (mmol/l)

Mean	4.06
Median	4.10
Standard Deviation	0.12
Sample Variance	0.02
Minimum	3.90
Maximum	4.20
Count	20
Confidence Level (95.0%)	0.06
Koeficienti i variacionit %	3.03

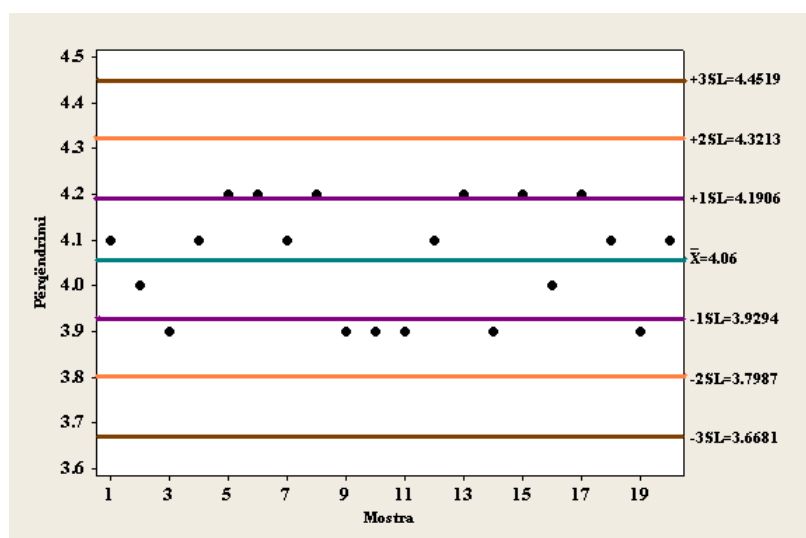


Figura 1.3. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 70% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 30% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm 2SL), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Tabela 1.7. Të dhënat e përpunimit statistikor, për studimin e saktësisë brenda serisë, gjatë përcaktimit të kaliumit, me metodë fotometrike-turbidimetrike me tetrafenilborat natriumi

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
Studimi i saktësisë brenda serisë studiuar në kushtet tona	20	4.06	0.12	3.03	< 10
Studimi i saktësisë brenda serisë cituar në literatura	20	3.95	0.09	2.17	

Të dhënat e tabelës 1.7 vënë në dukje, që metoda fotometrike-turbidimetrike për përcaktimin e kaliumit, ka një saktësi brenda serisë shumë të mirë (C.V = 3 %)

Në lidhje me studimin e metodës, për përcaktimin e kaliumit, me metodë fotometrike-turbidimetrike, me natrium tetrafenilborat në serum të gjakut, mund të nxjerrim këto përfundime:

- Metoda fotometrike-turbidimetrike, për përcaktimin e kaliumit në serum është e thjeshtë dhe mund të realizohet në çdo laborator, që zotëron një fotometër, me të paktën një filtër optik në pjesën e kuqe të spektrit të dukshëm;
- Studimi matematiko-statistikor tregon, që kjo metodë është e njëvlershme, me metodën me elektrodë jono-selektive, për përcaktimin e kaliumit;
- Metoda fotometrike-turbidimetrike për matjen e kaliumit, është lineare deri në 9 mmol/l. Lineariteti i saj plotëson kushtet, për matjen e kaliumit në serum apo plazmën e gjakut. Për matje të kaliumit në urinën e 24 orëve, mostra analitike duhet t'i nënshtrohet teknikës së hollimit, ku hollimi minimal është 1:10;
- Studimi i saktësisë brenda serisë tregon, që metoda ka një saktësi shumë të mirë, për t'u përdorur në kushte laboratorike të përditshme;

2. KALCIUMI

2.1 Studimi i metodave fotometrike për përcaktimin e kalciumit në lëngjet biologjike

Për përcaktimin e kalciumit në lëngjet biologjike, aktualisht në treg ofrohen 3 metoda fotometrike- kolorimetrike:

- Metoda kolorimetrike me o-krezolftaleinë
- Metoda kolorimetrike me metiltimolblu
- Metoda kolorimetrike me arsenazo III

Përdorim më të gjerë në laboratorët mjekësorë të vendit tonë kanë metodat kolorimetrike me o-krezolftaleinë dhe metiltimolblu. Për këtë arsye, krahasuam këto dy metoda, në studimin tonë.

U studiua korrelacioni midis dy metodave, ekuacioni i regresionit, kufiri i linearitetit dhe saktësia e rezultatit.

2.2 Metoda kolorimetrike me o-krezolftaleinë për përcaktimin e kalciumit në lëngjet biologjike

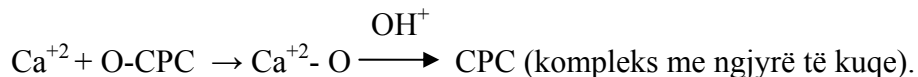
2.2.1 Parimi i metodës

Kalciumi i pranishëm në materialin biologjik, në mjedis analitik alkaline, hyn në reaksion me o-krezolftaleinë, duke dhënë një kompleks të ngjyrosur me ngjyrë violet (purpur). Ky kompleks i ngjyrosur, ka një maksimum absorbimi në brezin e verdhë të spektrit të dukshëm, 560– 600 nm.

Madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e kalciumit, në materialin biologjik.

Në reaksionin analitik shtohet 8-hidroksikinolinë, për të eliminuar interferencën e kationeve të tjerë, sidomos të magnezit.

Ekuacioni i reaksionit analitik është:



2.2.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur

Në këtë studim u përdor një kit analitik i firmës FUTURA SYSTEM s.r.l me kod REF. N° 2031.

Përbërja e këtij kiti analitik është si vijon:

Reagenti R₁

Buffer (tampon)
Aminometilpropanol 350 mmol/l

Reagenti R₂

O-kresolftalein complexone 0.19 mmol/l
8-Hidroksikinolinë 7.0 mmol/l

Standardi Ca (kalibrues) 10 mg/dl

2.2.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit

Ky kit është i qëndrueshëm deri në datën e skadencës, me kusht që reagenti 1 dhe reagenti 2 të mbahen në temperaturën e dhomës, ndërsa kalibratori në frigorifer në temperaturë 2-8 ° C.

2.2.4 Përgatitja e reagentit të punës

Reagenti i punës përgatitet duke përzier në volume të barabarta reagentin R₁ me reagentin R₂. Reagenti i punës është i qëndrueshëm për 6 orë, në temperaturë dhome.

2.2.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë

Me anë të kësaj metode kaliumi mund të matet në:

- Serum të freskët pa hemolizë;
- Plazmë të heparinizuar
- Urinë e acidifikuar me 2-3 pika acid klorhidrik 0.1 M, e holluar në raportin 1:5 me ujë të destiluar.

2.2.6 Metodika analitike

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	25 µl	-----	-----
Standard	-----	25 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	25 µl
Reagent analitik	1 ml	1 ml	1 ml

Tubat analitike përzihen mirë dhe lihen në inkubim në temperaturë dhome për 5 min. Pas kësaj, tubat maten në fotometër të programueshëm, në programin e kaliumit për metodën me o-kresolftaleinë.

Matjet u kryen në fotometrën BTS-310 PLUS.

Parametrat e programit analitik matës janë:

• Metoda analitike	End-Point me standard
• Njësia matëse	mg/dl
• Zerimi i fotometrit	kundrejt H ₂ O destile
• Gjatësia e valës	600 nm
• Përqëndrimi i standardit	10 mg/dl
• Koha e leximit	5 sekonda
• Temperatura e kyvetës	25 °C, 30 °C, ose 37°C
• Kyveta optike	1 cm
• Volumi i thithjes	900 µl
• Drejtimi i reaksionit	ngritës (slope pozitiv)
• Leximi optik	Monokromatik

Reaksioni analitik është i qëndrueshëm deri në 30 minuta, pas përfundimit të kohës së inkubimit.

2.2.7 Llogaritja e rezultatit të analizës

Formulat për llogaritjen e rezultatit të analizës janë ato, që derivojnë nga aplikimi i ligjit të Lambert-Beerit.

Kalciumi në serum apo në plazmën e heparinizuar

$$\text{Kalcium (mg/dl)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}}$$

$$\text{Ca (mg/dl)} = \frac{A_{\text{analizës}} - A_{\text{blankut}}}{A_{\text{standardit}} - A_{\text{blankut}}} * 10 \text{ mg/dl}$$

Kalciumi në porcion urinë

$$\text{Kalcium (mg/dl)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}} * 5$$

$$\text{Ca}_{\text{urinë}} \text{ (mg/dl)} = \frac{A_{\text{analizës}} - A_{\text{blankut}}}{A_{\text{standardit}} - A_{\text{blankut}}} * 10 \text{ mg/dl} * 5$$

Kalciumi në urinën e 24 orëve (24 h)

$$\text{Kalcium (mg/24 h)} = \frac{\text{Kalciumi në urinë}}{100} * \text{Volumi urinës për 24 orë (në ml)} \text{ (Pesce \& Kaplan., 1987)}$$

2.2.8 Vlerat normale të kitit analitik

Serum apo plazmë e heparinizuar

Të rritur	8.1 mg/dl – 10.4 mg/dl
Të porsalindur	8.0 mg/dl – 15 mg/dl

Urinë e 24 orëve 50 – 400 mg/24 h

Duhet patur parasysh, që këto vlera normale janë orientuese. Çdo laborator në përputhje me kushtet e popullatës që mbulon dhe teknikat analitike që zotëron, duhet të përcaktojë vetë intervalet e vlerave normale.

2.3 Përcaktimi i kalciumit në lëngjet biologjike me metodën kolorimetrike me reagentin kromogjen metiltimolblu (MTB)

2.3.1. Parimi i metodës

Kalciumi, i pranishëm në materialin biologjik në mjedis analitik alkaline, hyn në reaksion me metiltimolblu dhe formon një kompleks të ngjyrosur, i cili ka një maksimum absorbimi, në pjesën e kuqe të spektrit të dukshëm. Intensiteti i ngjyrës, apo madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e kalciumit në materialin biologjik.

Për të shmangur ndikimin e joneve magnezium në reaksionin analitik, përdoret reagenti 8-Hidroksikinolinë.

Në këtë studim, u përdor kiti analitik i firmës Biosystems, me kod 11527.

2.3.2. Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur

Reagenti A

Cianur Kaliumi	7.7 mmol/l
Etanolaminë	1.5 mmol/l

Reagenti B

Metiltimolblu	0.1 mmol/l
Acid klorhidrik	10 mmol/l
8-Hidroksikinolinë	17 mmol/l

Standard Kalciumi (kalibrator)

Tretësirë ujore 10 mg/dl (2.5 mmol/l) kalcium, 2 mg/dl magnez

2.3.3. Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit

Reagentët e kitit analitik janë të qëndrueshëm deri në datën e skadencës, n.q.s kiti ruhet në temperaturë dhome.

2.3.4. Përgatitja e reagentit të punës

Për të përgatitur reagentin e punës, përzihen në volume të barabarta reagenti A dhe reagenti B. Reagenti i punës është i qëndrueshëm për 2 ditë, n.q.s mbahet në frigorifer në temperaturë 2-8°C.

2.3.5. *Materiali biologjik i vlefshëm për analizë*

Me metodën kolorimetrike me MTB, calciumi mund të matet në këto materiale analitike:

- Serum gjaku i pa hemolizuar
- Plazmë e heparinizuar
- Porcion urine
- Urinë e 24 orëve
- Ujra të ndryshëm

2.3.6. *Metoda analitike*

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	10 µl	-----	-----
Standard	-----	10 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	10 µl
Reagent analitik	1 ml	1 ml	1 ml

Tubat analitikë përzihen mirë dhe lihen për inkubim 2 min, në temperaturë dhome. Maten absorbancat e çdo tubi analitik, në fotometër të programueshëm, të zeruar përkundrajt ujit destile.

Reaksioni analitik është i qëndrueshëm deri në 1 orë, pas përfundimit të kohës së inkubimit.

2.3.7. *Vlerat normale të kitit analitik*

Serum apo plazmë e heparinizuar

Të rritur 8.6 mg/dl–10.3 mg/dl
2.15 mmol/l–2.58 mmol/l

Urinë 100 –300 mg/24 h
2.5 mmol/ 24 h–7.5 mmol/24 h

Elementët e programit për matjen e kalciumit me metodën me metiltimolblu janë:

- Metoda analitike End-Point me standard
- Njësia matëse mg/dl
- Zerimi i fotometrit kundrejt H₂O destile
- Gjatësia e valës 635 nm
- Përqëndrimi i standardit 10 mg/dl
- Koha e leximit 5 sek
- Temperatura e kyvetës 25 °C, 30 °C, ose 37°C
- Volumi i thithjes 900 µl
- Kyveta optike 1 cm
- Drejtimi i reaksionit ngritës (slope pozitiv)
- Leximi optik Monokromatik

I vetmi ndryshim midis programeve analitikë për matjen e kalciumit me metodë kolorimetrike me o-krezolftaleinë dhe metodë kolorimetrike me metiltimolblu është gjatësia e valës. Kjo lidhet ngushtë me ngjyrën e reaksionit analitik, e cila është e ndryshme, për të dy metodat.

Për sa i përket formulave llogaritëse, për llogaritjen e kalciumit në serum, plazmë, porcion urine dhe urinë e 24 orëve, ato janë të njëjta me ato që përdoren dhe në metodën me o-krezolftaleinë.

2.4 Krahasimi i metodës me o-krezolftaleinë dhe metodës me metiltimolblu, për përcaktimin e kalciumit në serum dhe gjakut, në kushtet e laboratorëve tanë

Në praktikën e laboratorëve të vendit tonë, për matjen e përqendrimit të kalciumit në materialet biologjike, përdoren zakonisht të dy metodat e lartpërmendura.

Në mjaft raste, midis laboratorëve të ndryshëm, ka diskordanca në lidhje me rezultatin e analizës. Në studimin tonë, krahasuam dy metodat e lartpërmendura, për të gjykuar nëse këto diskordanca janë të lidhura me thelbin e metodave analitike, apo me zbatimin e tyre praktik, në mënyrë jo korrekte.

Për të realizuar këtë qëllim, përcaktuam kalciumin me të dy metodat, në serum dhe gjakut të 30 pacientëve, pa çrregullime të metabolizmit të kalciumit. Skema eksperimentale është si më poshtë vijon:

- U përftua serumi i gjakut të 30 pacientëve të shëndoshë, gjaku i të cilëve u mor në tuba me xhel dhe serumi i gjakut u siguroi me anë të teknikës standarde;
- U përdor kiti analitik i firmës FUTURA System për përcaktimin e kalciumit, me metodën me o-krezolftaleinë;
- U përdor kiti analitik i firmës BioSystems, për të matur kalciumin me metodën kolorimetrike me metiltimolblu;
- Matjet u bënë me fotometrën e programueshëm BTS 310 PLUS;
- Të dhënat e fituara u përpunuan nga këndvështrimi matematiko-statistikor. U llogarit mesatarja aritmetike \bar{x} , shmangia standarde (SD ose σ), koeficienti i korrelacionit, ekuacioni i regresionit dhe T- testi;

Të dhënat e fituara nga përpunimi matematiko-statistikor jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.8. Krahasimi statistikor i rezultateve të kalciumit me metodat kolorimetrike me OCPC dhe MTB

Metoda e matjes	Numri i matjeve n	Vlera mesatare (mg/dl)	Shmangia standarde (mg/dl)	Ekuacioni i regresionit
Metoda analitike me OCPC (x)	30	9.29	0.526	$y = 0.8331x + 1.38$
Metoda analitike me MTB (y)	30	9.12	0.443	$Ca(MTB) = 0.8331Ca(OCPC) + 1.38$

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
Kalciumi me OCPC	30	278.6	9.287	0.277
Kalciumi me MTB	30	273.5	9.117	0.196

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.434	1	0.434	1.831	0.181	4.007
Within Groups	13.728	58	0.237			
Total	14.162	59				

Nga tabela e mësipërme shikojmë që $F_{\text{logarituar}} = 1.831 < F_{\text{Kritike}} = 4.007$ si dhe $p = 0.181 > 0.05$, pra nuk ka ndryshime të rëndësishme ndërmjet shmangieve standarde të dy metodave.

Tabela 1.9. Krahasimi i rezultateve të kalciumit me metodë OCPC dhe MTB

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

Kalciumi	OCPC	MTB
Mean	9.287	9.117
Variance	0.277	0.196
Observations	30	30
Hypothesized Mean Difference	0	
df	56	
t Stat	1.353	
P(T<=t) one-tail	0.091	
t Critical one-tail	1.673	
P(T<=t) two-tail	0.181	
t Critical two-tail	2.003	

Nga të dhënat e tabelës 1.9, shihet qartë që nuk ka asnjë ndryshim statistikor sinjifikativ, midis vlerave mesatare të kalciumit, të marrë me të dy metodat, me metodë me o- krezolftaleinë dhe me metiltimolblu, për një nivel besueshmërie 95 %. Kjo do të thotë, që për sa i përket saktësisë së matjes së kalciumit në serum in e gjakut, të dyja metodat janë të njëvlershme.

Matematikisht kjo vërtetohet dhe nga testi i studentit, T-testi, ku $t_{\text{statistikore}} = 1.353$, ndërsa $t_{\text{Critical one-tail}} = 1.673$ dhe $t_{\text{Critical two-tail}} = 2.003$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical one-tail}}$ dhe $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$.

Gjithashtu $p = 0.181 > 0.05$.

Koeficienti i korrelacionit është $r = 0.990$, $r^2 = 0.979$, gjë që tregon që për matjen e kalciumit në serum in e gjakut, metodat e lartpërmendura kanë një korrelacion shumë të mirë me njëra-tjetrën.

Si përfundim mund të themi se n.q.s metodat zbatohen, në përputhje me kushtet e tyre teknologjike dhe analitike, rezultatet janë të njëjta.

Në një studim të kryer nga kompania FUTURA SYSTEM S.r.l, duke matur përmbajtjen e kalciumit në 20 pacientë të shëndoshë, me metodën kolorimetrike me OCPC (y) dhe me metodën tjetër (x), koeficienti i korrelacionit është gjetur $r = 0.9686$, shumë i përafërt me atë të gjetur në kushtet e laboratorëve tanë (Futura System. Rev. 009. September 2008).

Në tabelën 1.10, jepet krahasimi i të dhënave të studimit tonë, me atë të publikuar nga kompania FUTURA SYSTEM S.r.l, prodhuese e kitit me numër katalogu REF. N° 2031.

Tabela 1.10. Krahasimi i të dhënave të studimit tonë, me të dhënat e studimit të kompanisë FUTURA

	Koeficienti i korrelacionit	Ekuacioni i regresionit
Krahasimi i metodave në studimin tonë	0.99	Y= 0.8331x + 1.38 Ca(MTB) = 0.8331 Ca(OCPC) + 1.38
Krahasimi i metodave në studimin e kompanisë FUTURA	0.97	Y= 0.87x + 1.1 Ca(MTB)= 0.87 Ca(OCPC) + 1.1

Analiza e të dhënave të tabelës 1.10, dëshmon qartë për njëvlershmerinë e dy metodave të studiuara.

2.5 Studimi i kufirit të linearitetit për metodat kolorimetrike të përcaktimit të kalciumit me OCPC dhe MTB

Kufiri i linearitetit ose përqëndrimi maksimal, për të cilin zbatohet ligji i Lambert Beer është shumë i rëndësishëm, për përcaktimin e kalciumit në lëngjet biologjike, me metodat e lartpërmendura kolorimetrike.

U përgatitën një seri tretësirash standarde me përqëndrime nga 0 mg/dl deri në 14 mg/dl. Për të përgatitur serinë e tretësirave standarde u përdor kloruri i kalciumit CaCl₂, i firmës Merck, i tharë në 37°C në termostate deri në peshë konstante. Tretësirat standarde u përgatitën duke përdorur si tretës, ujë të dejonizuar.

Vlerat normale të kalciumit në serumin e gjakut, sipas literaturës, ndryshojnë nga 9 mg/dl deri në 11 mg/dl.

Në kushte patologjike, në varësi të sëmundjes, përqëndrimi i kalciumit në serum ndryshon nga 4 mg/dl në 8.6 mg/dl (hipokalcemia) dhe nga 10.5 mg/dl në 14 mg/dl (hiperkalcemia).

Vlerat e kalciumit, të papajtueshme me jetën, janë minimalisht 4 mg/dl dhe maksimalisht 14 mg/dl.

Për këtë arsye, seria e tretësirave standarde e përgatitur, plotëson të gjitha kushtet, për studimin e kufirit të linearitetit, kur bëhet fjalë për matjen e kalciumit në serumin e gjakut.

Tretësirat standarde, me përqëndrime të njohura, u analizuan me të dy metodat kolorimetrike dhe u matën me fotometrin e programueshëm BTS 310 PLUS, i cili siguron matje me besueshmëri shumë të lartë deri në vlerën 2 të absorbancës.

Të dhënat e fituara jepen në tabelën 1.11 dhe paraqiten grafikisht në grafikët 1.4 dhe 1.5.

Tabela 1.11. Të dhënat analitike, për studimin e kufirit të linearitetit, për metodat analitike kolorimetrike, të përcaktimit të kalciumit me OCPC dhe MTB

Përqëndrimi i tretësirës mg/dl	0	0.5	1	2	5	10	12	14
Metoda OCPC Absorbanca e matur	0.119	0.122	0.127	0.151	0.182	0.265	0.281	0.309
Metoda MTB Absorbanca e matur	0.108	0.125	0.131	0.148	0.186	0.269	0.294	0.315

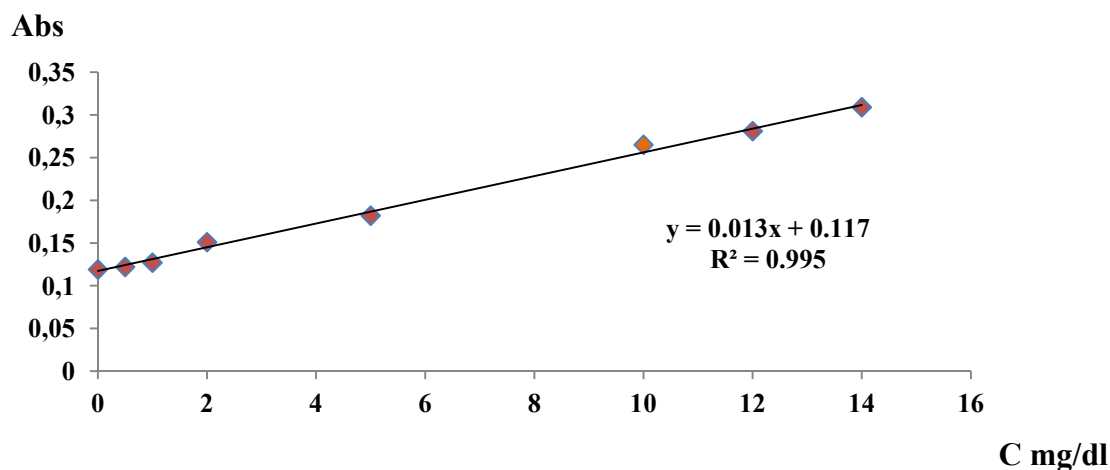


Figura 1.4. Studimi i kufirit të linearitetit, për metodën kolorimetrike të përcaktimit të kalciumit me OCPC

Të dhënat e grafikut dëshmojnë, që metodat e studiuara janë lineare deri në 14 mg/dl. Ky kufi lineariteti është i mjaftueshëm për të matur përqëndrimet e kalciumit me metodën me o-krezolftaleinë në serum in e gjakut, në çdo situatë patologjike. Në materialin teorik, që shoqëron kitin analitik të përdorur, ky kufi lineariteti jepet deri në përqëndrimin 15 mg/dl.

Në grafikun e parë, i cili përfitohet nga të gjitha të dhënat e tabelës së mësipërme, ekuacioni i drejtëzës është i formës :

$$y = 0.013x + 0.117 \text{ dhe } R^2 = 0.995$$

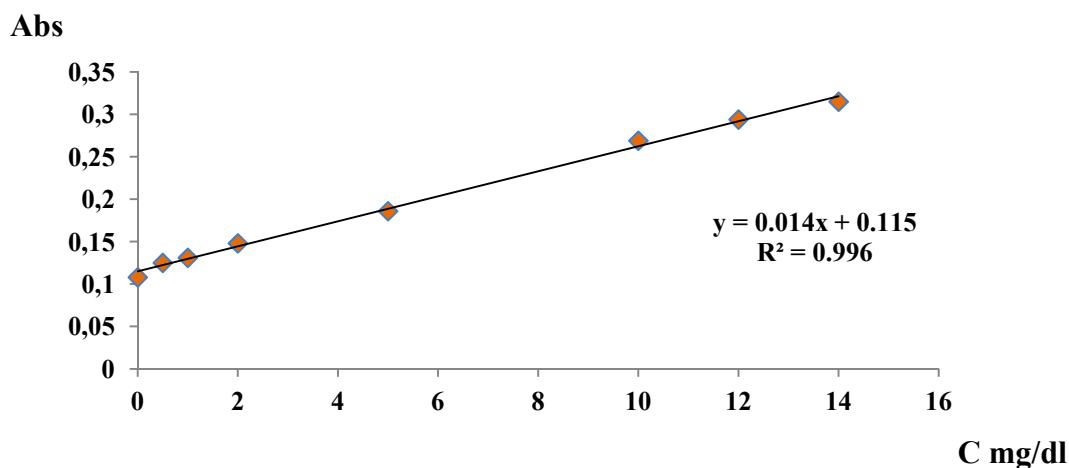


Figura 1.5. Studimi i kufirit të linearitetit, për metodën kolorimetrike të përcaktimit të kalciumit me MTB

Në grafikun e dytë, i cili përfitohet nga të gjitha të dhënat e tabelës së mësipërme, ekuacioni i drejtëzës është i formës :

$$y = 0.014x + 0.115 \text{ dhe } R^2 = 0.996$$

Të dhënat e grafikut tregojnë, që kufiri i linearitetit për këtë metodë është deri në përqëndrimin 14 mg/dl, pra i njëjtë me atë të metodës kolorimetrike me OCPC.

Gjatë matjes së kalciumit në urinë, hollimi paraprak është i domosdoshëm, për t'u respektuar kufiri i linearitetit. Shkalla më e përshtatshme e hollimit është 1:5.

2.6 Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm

Dihet se vlerat normale të kalciumit në serum ose plazëm, me metodën me o-krezolftaleinë janë 8.1 mg/dl –10.4 mg/dl.

Vlera minimale e kalciumit e pajtueshme me jetën është 4 mg/dl, ndërsa vlera maksimale e kaliumit e pajtueshme me jetën është 14 mg/dl.

Kufiri i diktimit

Konkretisht nga matja 20 herë e provës së bardhë, me fotometër BTS 310 PLUS, në gjatësinë e valës 600 nm, rezultoi që $y_B = 0.119$ dhe Shmangia standarde = 0.001.

$$y - y_B = 3 S_B \text{ (Baraj \& Shehu., 2012)}$$

Sinjali i kufirit të diktimit është $y = 0.122$

Kufiri i diktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.013x + 0.117$ do të jetë:

$$KD = 0.37 \text{ mg/dl}$$

Kufiri i përcaktimit

$$y = y_B + 10 S_B$$

Sinjali i kufirit të përcaktimit është $y = 0.129$

Kufiri i përcaktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.013x + 0.117$ do të jetë:

$$KP = 0.9 \text{ mg/dl}$$

Nga ekuacioni i mësipërm $y = 0.013x + 0.117$ rezulton se ndjeshmëria e metodës kolorimetrike të përcaktimit të kalciumit me OCPC është 0.013 mg/dl.

Në rastin e përcaktimit të kalciumit, me metodën analitike kolorimetrike me MTB, rezultoi që nga matja 20 herë e provës së bardhë, me fotometër BTS 310 PLUS, në gjatësinë e valës 635 nm, $y_B = 0.108$ dhe Shmangia standarde = 0.0031.

Kufiri i diktimit

$$y - y_B = 3 S_B$$

Sinjali i kufirit të diktimit është $y = 0.118$

Kufiri i diktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.014x + 0.115$ do të jetë:

$$KD = 0.20 \text{ mg/dl}$$

Kufiri i përcaktimit

$$y = y_B + 10 S_B$$

Sinjali i kufirit të përcaktimit është $y = 0.140$

Kufiri i përcaktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.014x + 0.115$ do të jetë:

$$KP = 1.76 \text{ mg/dl}$$

Nga ekuacioni i mësipërm $y = 0.014x + 0.115$ rezulton se ndjeshmëria e metodës kolorimetrike të përcaktimit të kalciumit me MTB është 0.014 mg/dl.

2.7 Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e kalciumit me metodë kolorimetrike me OCPC si dhe me ISE

Që një metodë analitike të jetë e besueshme është e nevojshme, që ajo të ketë përsëritshmëri të mirë.

Një ndër metodat për të studiuar përsëritshmërinë është përcaktimi i saktësisë brenda serisë.

Për të realizuar këtë qëllim, përzgjidhet një standard i certifikuar apo një serum kontrolli me vlerë të njohur të elementit që studiohet, të matur me një nga metodat analitike të referencës.

Ne përzgjedhëm një serum kontrolli, me vlera normale, Duna Count N, Lot 12335, i firmës Diagnosticum.

Përqëndrimi i kalciumit në këtë serum kontrolli është 1.08 mmol/l ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 0.89 mmol/l-1.26 mmol/l.

Duke përdorur këtë serum, u bënë 20 matje paralele të kalciumit duke aplikuar metodën me elektrodë jono-selektive dhe aparatit elektrolitmetër ISE SINO 005.

Këto të dhëna u përpunuan nga pikëpamja matematiko-statistikore, duke llogaritur vlerën mesatare \bar{x} , shmangia standarde S D (σ) si dhe koeficientin e variacionit C.V %, si dhe duke ndërtuar diagramin e kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e përpunuara statistikisht jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.12. Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e kalciumit me metodë me elektrodë jono-selektive

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
ISE Aparati SINO 005	20	0.98	0.04	4.1	< 10

Kalciumi (mmol/l)

Mean	0.98
Median	0.98
Standard Deviation	0.04
Sample Variance	0.002
Minimum	0.92
Maximum	1.06
Count	20
Confidence Level (95.0%)	0.02
Koeficienti i variacionit %	4.1

Nga të dhënat e tabelës 1.12, shihet qartë, që koeficienti i variacionit C.V është 4.1 %.

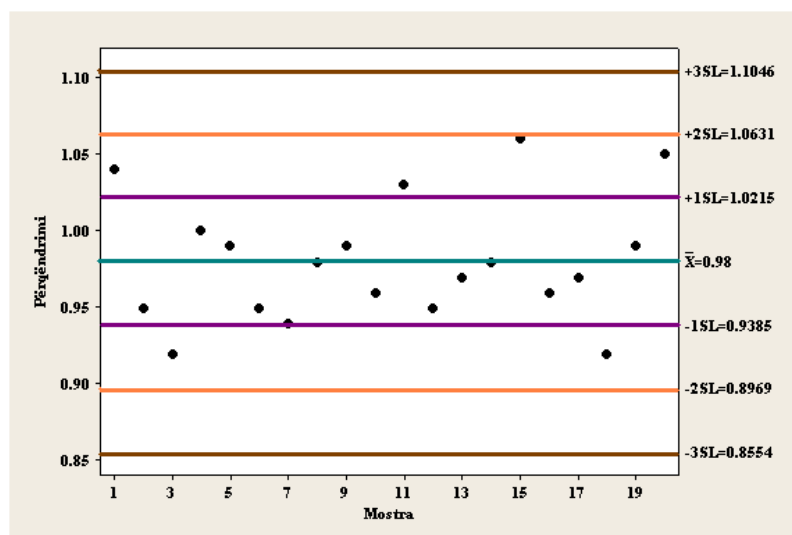


Figura 1.6. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 70% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare $\pm SL$) dhe 30% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare $\pm 2SL$), pra nuk ka gabime në përcaktim. Në laboratorët mjekësorë, një metodë konsiderohet me përsëritshmëri të mirë, kur koeficienti i variacionit, në matjet paralele brenda serisë është më i vogël se sa 10%. Si përfundim mund të themi, që matja e kalciumit me teknikën ISE, duke përdorur elektrolitmetrin SINO 005, është e besueshme për t'u përdorur si metodë krahasuese.

Krahas studimit të saktësisë brenda serisë, për matjen e kalciumit me elektrodë jono-selektive u studiua dhe saktësia brenda serisë për matjen e kalciumit me metodë kolorimetrike me o-krezolfaleinë. Ne përzgjedhëm një serum kontrolli, me vlera normale, Duna Count N, Lot 16714, i firmës Diagnosticum. Përqëndrimi i kalciumit në këtë serum kontrolli është 9.2 mg/dl, ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 8.2–10.3 mg/dl. Kiti analitik për matjen e kalciumit me metodë kolorimetrike ishte i

firmës FUTURA SYSTEM S.r.l. me kod REF. N^o 2031. Matjet u realizuan me fotometrin e programueshëm BTS 310 PLUS. Të dhënat e fituara u përpunuan nga pikëpamja matematiko-statistikore, duke llogaritur vlerën mesatare \bar{x} , shmangia standarde S D (σ), koeficientin e variacionit C.V % si dhe duke ndërtuar diagramin e kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e fituara në këtë pjesë të studimit, jepen në tabelën 1.13.

Tabela 1.13. Studimi i saktësisë brenda serisë, për matjen e kalciumit me metodë kolorimetrike me OCPC

Kalciumi (mg/dl)	
Mean	9.13
Median	9.15
Standard Deviation	0.15
Sample Variance	0.02
Minimum	8.90
Maximum	9.30
Count	20.00
Confidence Level (95.0%)	0.07
Koeficienti i variacionit %	1.62

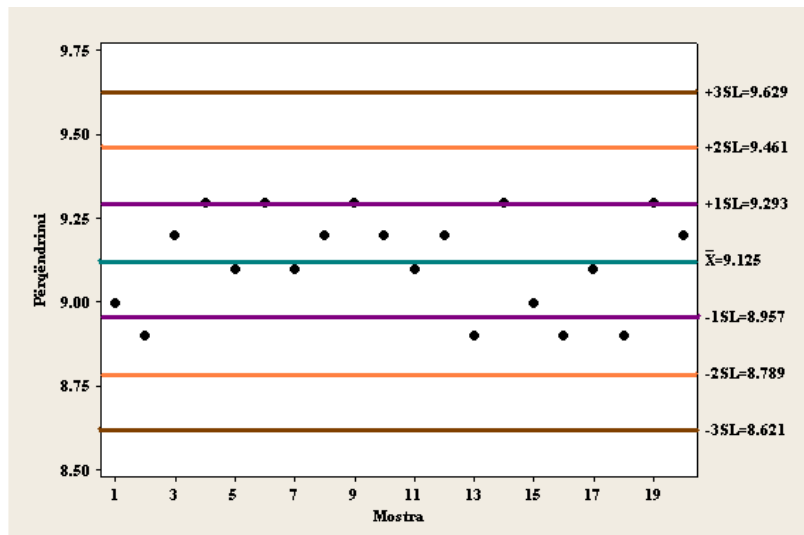


Figura 1.7. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 80% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 20% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm 2SL), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Tabela 1.14. Të dhënat e përpunimit statistikor, për studimin e saktësisë brenda serisë, gjatë përcaktimit të kalciumit, me metodë kolorimetrike me OCPC

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mg/dl)	Shmangia standarde (mg/dl)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
Studimi i saktësisë brenda serisë studiuar në kushtet tona	20	9.13	0.15	1.62 %	< 10
Studimi i saktësisë brenda serisë cituar në literatura	20	8.98	0.18	2.04 %	

Të dhënat e tabelës 1.14, vënë në dukje, që metoda kolorimetrike për përcaktimin e kalciumit, ka një saktësi brenda serisë shumë të mirë (C.V =1.6 %)

Në lidhje me studimin e metodave, për përcaktimin e kalciumit, mund të nxjerrim këto përfundime:

- Metoda kolorimetrike me o-krezolftaleinë, për përcaktimin e kalciumit në serum është e thjeshtë dhe mund të realizohet në çdo laborator, që zotëron një fotometër, me të paktën një filtër optik në pjesën e verdhë të spektrit të dukshëm;
- Studimi matematiko-statistikor tregon, që metoda kolorimetrike me OCPC, për përcaktimin e kalciumit në lëngjet biologjike, është e njëvlershme me metodën kolorimetrike me reagentin kromogjen metiltimolblu (MTB). Pra, n.q.s metodat zbatohen, në përputhje me kushtet e tyre teknologjike dhe analitike, rezultatet janë të njëjta;
- Metoda kolorimetrike me o-krezolftaleinë për përcaktimin e kalciumit dhe metoda kolorimetrike me reagentin kromogjen metiltimolblu (MTB), janë lineare deri në 14 mg/dl, linearitet ky i mjaftueshëm, për të matur përqëndrimet e kalciumit, në serum dhe gjakut apo plazmën e gjakut me të dy metodat, në çdo situatë patologjike. Për matje të kalciumit në urinën e 24 orëve, mostra analitike duhet t'i nënshtrohet teknikës së hollimit, ku hollimi minimal është 1:5;
- Studimi i saktësisë brenda serisë tregon, që metodat kanë një saktësi shumë të mirë, për t'u përdorur në kushte laboratorike të përditshme;

3 KLORI

3.1 Studimi i metodës kolorimetrike për përcaktimin e klorit në lëngjet biologjike

Metoda kolorimetrike, më e përdorshme për matjen e klorit në lëngjet biologjike, është metoda me tiocianat mërkuri.

Në këtë studim u përdor një kit kolorimetrik i firmës FUTURA SYSTEM S.r.l.

Si metodë krahasimi u zgjodh metoda me elektroda jono-selektive, ndërsa si aparat matës elektrolitmetri SINO 005.

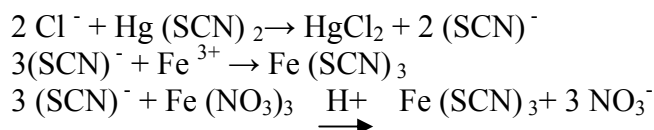
3.1.1. Parimi i metodës

Jonet e klorit, të pranishëm në materialin biologjik, hyjnë në reaksion me tiocianatin e mërkurit, duke çliruar jonet tiocianat. Jonet tiocianat në prani të joneve të hekurit Fe^{3+} , formojnë tiocianatin ferrik, një kompleks me ngjyrë rozë.

Ky kompleks i ngjyrosur ka një maksimum absorbimi në pjesën e gjelbër të spektrit, kryesisht në gjatësinë e valës 505 nm.

Intensiteti i ngjyrës së kompleksit apo madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqendrimin e klorit në materialin biologjik.

Reaksioni analitik zhvillohet sipas ekuacioneve të mëposhtme:



3.1.2. Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur

Për të realizuar studimin, u përdor kiti analitik i firmës FUTURA SUSTEM S.r.l me numër katalogu REF N°3008.

Përbërja kimike e këtij kiti analitik është si vijon:

Reagenti analitik

Tiocianat mërkuri	2 mmol/l
Nitrat ferrik $Fe(NO_3)_3$	20 mmol/l
Acid nitrik HNO_3	20 mmol/l
Klorur mërkuri $HgCl_2$	0.75 mmol/l

Ky reagent është i lëngshëm dhe i gatshëm për punë.

Standardi (kalibrator)

Tretësirë ujore kloruresh	100 mmol/l
---------------------------	------------

3.1.3. Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit

Kiti analitik ruhet në temperaturë ambienti. N.q.s përdoret sipas rregullave analitike është i qëndrueshëm deri në datën e skadencës, që tregohet në etiketën e tij. Për sa i përket tretësirës standarde, n.q.s ajo menaxhohet me kujdes (shmanget kontaminimi, evaporimi dhe hollimi) është e qëndrueshme deri në datën e skadencës, që tregohet në etiketën e saj.

3.1.4. Materiali biologjik i përdorur për analizë

- Serumi i freskët i gjakut, i pahemolizuar
- Plazmë e heparinizuar .
- Urinë e holluar 1:2 me ujë destile
- Lëng truno-shpinor

3.1.5. Metoda analitike

Procesi analitik zhvillohet sipas skemës së mëposhtme:

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	10 µl	-----	-----
Standard	-----	10 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	10 µl
Reagent analitik	1 ml	1 ml	1 ml

Tubat analitike përzihen mirë dhe lihen për inkubim për 5 min, në temperaturë ambiente.

Pas përfundimit të inkubimit maten absorbancat e të tre tubave, në një gjatësi vale të përfshirë në brezin 460 nm- 510 nm, me preferencë 505 nm, pasi ky filtër ndodhet gjithmonë në kompletin e filtrave optikë të fotometrave të programueshëm.

Ngjyra analitike është e qëndrueshme të paktën për 30 minuta, që nga koha e përfundimit të inkubimit.

3.1.6. Llogaritja e rezultatit të analizës

Pas matjes së absorbancave të tubave analitike, bëhen llogaritjet e përqendrimit të klorureve, në lëngjet biologjike, me anë të formulave të mëposhtme:

Klori në serum apo në lëngun truno – shpinor

$$\text{Kloruret (mmol/l)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}}$$

$$\text{Cl}^- (\text{mmol/l}) = \frac{\text{Abs A} - \text{Abs B}}{\text{Abs S} - \text{Abs B}} * 100 \text{ mmol/l}$$

Klori në porcion urine

$$\text{Kloruret (mmol/l)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}} * 2$$

$$\text{Cl}^- (\text{mmol/l}) = \frac{\text{Abs A} - \text{Abs B}}{\text{Abs S} - \text{Abs B}} * 100 * 2$$

ku 2 është koeficienti i hollimit të urinës.

Klori në urinën e 24 orëve (24 h)

$$\text{Kloruret (mmol/l / 24 h)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}} * 2 * \text{volumin e urinës në litra.}$$

$$\text{Cl}^- (\text{mmol/l}) = \frac{\text{Abs A} - \text{Abs B}}{\text{Abs S} - \text{Abs B}} * 100 * 2 * \text{volumin e urinës në litra}$$

3.1.7. Vlerat normale të kitit analitik

Serum ose plazëm	98 – 110 mmol/l
Urina e 24 h	160 – 250 mmol/l /24 h
Lëngu truno-shpinor	119 – 130 mmol/l;

3.2 Studimi eksperimental i metodës kolorimetrike me tiocianat mërkuri, për përcaktimin e klorureve, në kushtet e laboratorëve tanë

Për studimin e kësaj metode u përdor kiti analitik i firmës FUTURA SYSTEM S.r.l, me numër reference REF N° 3008, me certifikatë të CE, ndërsa si fotometër matës u zgjodh fotometri BTS 310 PLUS, i firmës Byosystems, Spanjë, për faktin se është fotometri më i përhapur në laboratorët e vegjël dhe të mesëm të vendit tonë.

Elementët kryesorë të programit për matjen e klorit, në fotometrin BTS 310 PLUS janë:

- Metoda analitike End-Point me standard
- Njësia matëse mmol/l
- Zerimi i fotometrit kundrejt H₂O destile
- Filtri i matjes 505 nm
- Përqëndrimi i standardit 100 mmol/l
- Koha e leximit 5 sekonda
- Temperatura e kyvetës 37°C
- Kyveta me fluks Rruga optike 1 cm
- Volumi i thithjes 900 µl
- Drejtimi i reaksionit ngritës (slope pozitiv)
- Leximi optik Monokromatik

Si metodë referente, për ta krahasuar me metodën kolorimetrike me tiocianat, zgjodhëm metodën me elektroda jono-selektive.

Një numër i madh laboratorësh përdorin metodën me elektrodë jono-selektive për matjen e klorureve në lëngjet biologjike. Kjo metodë është e saktë, e shpejtë dhe mjaft komode, por gjithmonë ka kosto ekonomike relativisht të lartë.

Për një laborator të vogël më e përshtatshme do të ishte metoda kolorimetrike me tiocianat. Kjo do të ishte e mundur, n.q.s korrelacioni midis dy metodave është më i madh se sa 0.9.

Për të realizuar matjet me elektrodë jono selektive u përdor elektrolitmetri Easy-Lyte $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$, i firmës Medica, USA, një nga më të saktët në këtë fushë.

Si material biologjik, u përdor serumi i gjakut. U zgjodhën 30 subjekte të shëndoshë, pa sëmundje të veshkave dhe zemrës dhe që nuk përdorin preparate diuretike.

Skema eksperimentale është si më poshtë vijon:

- U përftua serumi i gjakut të 30 pacientëve të shëndoshë, gjaku i të cilëve u mor në tuba me xhel apo në tub me sfera dhe serumi i gjakut u siguroa me centrifugim për 5 minuta, në 5000 rrotullime/minutë, sipas teknikës standarde;
- U përdor kiti analitik i firmës FUTURA System për përcaktimin e klorureve, me metodat e mësipërme;
- Matjet u bënë me fotometrin e programueshëm BTS 310 PLUS i firmës Byosystems Spanjë, për përcaktimin e klorureve me metodën kolorimetrike;
- Matjet u bënë me elektrolitmetrin Easy-Lyte $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$, i firmës Medica, USA për përcaktimin e klorureve me metodën me elektroda jono-selektive;
- Të dhënat e fituara nga matjet e mësipërme, u përpunuan statistikisht duke llogaritur vlerën mesatare, shmangien standarde S D, koeficientin e korrelacionit r, ekuacionin e regresionit dhe T-testin;

Tabela 1.15. Krahasimi statistikor i rezultateve të klorit me metodë kolorimetrike dhe ISE

Metoda e matjes	Numri i matjeve n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Ekuacioni i regresionit
Metoda kolorimetrike me tiocianat (y)	30	101.3	4.163	$y = 0.9717x + 0.8629$ $\text{Cl (Tiocianat)} = \text{Cl (ISE)} * 0.9717 + 0.8629$
Metoda me elektroda jono-selektive (x)	30	103.4	4.157	

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
Klori me ISE	30	3,102	103.4	17.283
Klori me Tiocianat mērkuri	30	3,040	101.3	17.333

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	64.067	1	64.067	3.702	0.059	4.007
Within Groups	1,003.867	58	17.308			
Total	1,067.93	59				

Nga tabela e mësipërme shikojmë që $F_{\text{llogaritur}} = 3.702 < F_{\text{Kritike}} = 4.007$ si dhe $p = 0.059 > 0.05$, pra nuk ka ndryshime të rëndësishme, ndërmjet shmangieve standarde të dy metodave.

Tabela 1.16. Krahasimi i matjeve të klorit me metodë me tiocianat mërkuri dhe elektrodë jono-selektive

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

Klori	ISE	Tiocianat mërkuri
Mean	103.4	101.3
Variance	17.283	17.3
Observations	30	30
Hypothesized Mean Difference	0	
df	58	
t Stat	1.924	
P(T<=t) one-tail	0.030	
t Critical one-tail	1.672	
P(T<=t) two-tail	0.059	
t Critical two-tail	2.002	

Të dhënat e tabelës vënë në dukje, se nuk ka asnjë ndryshim statistikor sinjifikativ, midis vlerave mesatare të klorit, të marrë me të dy metodat, me metodën kolorimetrike dhe me metodën ISE, për një nivel besueshmërie 95%.

Kjo do të thotë, që për sa i përket saktësisë së matjes së klorureve në serum in e gjakut, të dyja metodat janë të njëvlershme.

Matematikisht kjo vërtetohet dhe nga testi i studentit, T-testi, ku $t_{\text{statistikore}} = 1.924$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 2.002$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$.

Gjithashtu $p = 0.059 > 0.05$.

Koeficienti i korrelacionit është $r = 0.970$, $r^2 = 0.941$, gjë që tregon që për matjen e klorureve në serum in e gjakut, metodat e lartpërmendura kanë një korrelacion shumë të mirë me njëra-tjetrën.

Pra, mund të themi se n.q.s metodat zbatohen në përputhje me kushtet e tyre teknologjike dhe analitike, rezultatet janë të njëjta.

Në një studim të kryer nga kompania FUTURA SYSTEM S.r.l, duke matur përmbajtjen e klorit në 20 pacientë të shëndoshë, me metodën kolorimetrike (y) dhe me elektrodë jono-selektive (x), koeficienti i korrelacionit është gjetur $r = 0.98$, shumë i përafërt me atë të gjetur në kushtet e laboratorëve tanë (Futura System. Rev. 009. September 2008).

Në tabelën 1.17, jepet krahasimi i të dhënave të studimit tonë, me atë të publikuar nga kompania FUTURA SYSTEM S.r.l, prodhuese e kitit me numër katalogu REF. N° 3008.

Tabela 1.17. Krahasimi i të dhënave të studimit tonë, me të dhënat e studimit të kompanisë FUTURA

	Koeficienti i korrelacionit	Ekuacioni i regresionit
Krahasimi i metodave në studimin tonë	0.97	$Y = 0.9717 x + 0.8629$ $Cl \text{ (Tiocianat)} = Cl \text{ (ISE)} * 0.9717 + 0.8629$
Krahasimi i metodave në studimin e kompanisë FUTURA	0.98	$Y = 0.9 x + 3.05$ $Cl \text{ (Tiocianat)} = Cl \text{ (ISE)} * 0.9 + 3.05$

Analiza e të dhënave të tabelës 1.17 dëshmon qartë për njëvlershmërinë e dy metodave të studiuara.

3.3 Studimi i kufirit të linearitetit për metodën e përcaktimit të klorureve me tiocianat mërkuri e vlefshme për përcaktimin e klorit në lëngjet biologjike

Sipas të dhënave të literaturës, përqëndrimi i klorit, në lëngjet biologjike, në pacientët normalë është:

Serum ose plazëm	98 – 110 mmol/l
Urina e 24 h	160 – 250 mmol/l /24 h
Lëngu truno – shpinor	119 – 130 mmol/l;

Në kushte patologjike, në varësi të sëmundjes, përqëndrimi i klorit në serum ndryshon nga 77 mmol/l në 97 mmol/l (hipokloremia) dhe nga 111 mmol/l në 135 mmol/l (hiperkloremia)

Ulja e klorit nën 77 mmol/l dhe rritja e tij mbi 135 mmol/l është e papajtueshme me jetën.

Duket qartë, që kufiri i linearitetit, pra varësia proporcionale midis përqëndrimit dhe absorbancës, prek një interval të gjerë të përqëndrimeve.

Studimi i kufirit të linearitetit u bë sipas kësaj metodike:

- U përgatit një seri tretësirash standarde me përqëndrime 0 mmol/l, 50 mmol/l, 100 mmol/l, 150 mmol/l, dhe 200 mmol/l;
Tretësirat e mësipërme standarde u përgatitën duke përdorur klorur natriumi, të tharë deri në peshë konstante dhe ujë të dejonizuar;
- Tretësirat e mësipërme standarde u punuan si analiza me metodën kolorimetrike me tiocianat, ndërsa absorbancat u matën në fotometrën BTS 310 PLUS;

Tabela 1.18. Të dhënat për studimin e kufirit të linearitetit të metodës kolorimetrike me tiocianat mërkuri për përcaktimin e klorureve

Përqëndrimi i tretësirës mmol/l	0	50	100	150	200
Absorbanca e matur	0.06	0.24	0.50	0.70	0.90

Me të dhënat e mësipërme u ndërtua lakorja e kalibrimit, duke vendosur në boshtin horizontal përqëndrimet dhe në atë vertikal absorbancat.

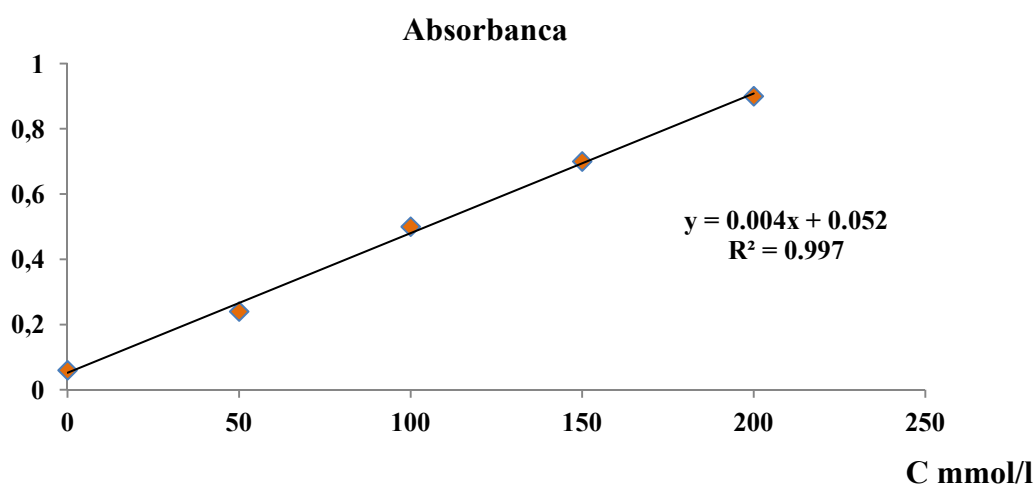


Figura 1.8. Studimi i kufirit të linearitetit për metodën kolorimetrike, të përcaktimit të klorureve me tiocianat mërkuri

Të dhënat e tabelës 1.18 dhe grafikut 1.8, vënë në dukje që metoda e studiuar është lineare deri në 200 mmol/l.

Në grafikun, i cili përfitohet nga të gjitha të dhënat e tabelës së mësipërme, ekuacioni i drejtëzës është i formës:

$$y = 0.004x + 0.052 \text{ dhe } R^2 = 0.997$$

Në intervalin e përqëndrimeve nga 50 mmol/l në 200 mmol/l, për metodën analitike me tiocianat, ligji i Lambert-Beer është i zbatueshëm dhe absorbanca është në përpjestim të drejtë me përqëndrimin.

Për këto përqëndrime, që mbulojnë intervalet patologjike dhe normale të klorureve në serum, plazmë dhe lëngun truno-shpinor, analiza mund të bëhet pa holluar materialin

biologjik dhe duke përdorur metodën End-Point me faktor, pa qenë e nevojshme të përdoret metoda multistandarde me lakore kalibrimi.

Për përcaktimin e klorureve në urinën e 24 orëve, është e nevojshme që të hollohet paraprakisht urina në raportin 1: 2, për të hyrë në zonën e linearitetit.

3.4 Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm

Dihet se vlerat normale të klorit në serum ose plazëm, me metodën me tiocianat janë 98–110 mmol/l.

Vlera minimale e klorit e pajtueshme me jetën është 77 mmol/l ndërsa vlera maksimale e klorit e pajtueshme me jetën është 135 mmol/l.

Kufiri i diktimit

Nga matja 20 herë e provës së bardhë, me fotometër BTS 310 PLUS, në gjatësinë e valës 600 nm, rezultoi që $y_B = 0.060$ dhe Shmangia standarde = 0.004.

$$y - y_B = 3 S_B$$

Sinjali i kufirit të diktimit është $y = 0.071$

Kufiri i diktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.004x + 0.052$ do të jetë:

$$KD = 5 \text{ mmol/l}$$

Kufiri i përcaktimit

$$y = y_B + 10 S_B$$

Sinjali i kufirit të përcaktimit është $y = 0.1$

Kufiri i përcaktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.004x + 0.052$ do të jetë:

$$KP = 11 \text{ mmol/l}$$

Nga ekuacioni i mësipërm $y = 0.004x + 0.052$ rezulton se ndjeshmëria e metodës kolorimetrike me tiocianat është 0.004 mmol/l.

Nga llogaritjet e mësipërme vërehet, se në të gjitha rastet përfshihet intervali patologjik i ndryshimit të klorit.

3.5 Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e klorureve me metodën kolorimetrike dhe me elektrodë jono-selektive

Që një metodë analitike të jetë e besueshme është e nevojshme, që ajo të ketë përsëritshmëri të mirë.

Një ndër metodat për të studiuar përsëritshmërinë është përcaktimi i saktësisë brenda serisë.

Për të realizuar këtë qëllim, përzgjidhet një standard i certifikuar apo një serum kontrolli me vlerë të njohur të elementit që studiohet, të matur me një nga metodat analitike të referencës.

Ne përzgjedhëm një serum kontrolli, me vlera normale, Duna Count N, Lot 12335, i firmës Diagnosticum.

Përqëndrimi i klorit në këtë serum kontrolli është 102 mmol/l ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 92 - 111mmol/l .

Duke përdorur këtë serum, u bënë 20 matje paralele të klorit duke aplikuar metodën me elektrodë jono-selektive dhe aparatit elektrolitmetër ISE SINO 005.

Këto të dhëna u përpunuan nga pikëpamja matematiko statistikore, duke llogaritur vlerën mesatare \bar{x} , shmangia standarde S D (σ), koeficientin e variacionit C.V % si dhe duke ndërtuar diagramin e kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e përpunuara statistikisht jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.19. Studimi i saktësisë brenda serisë, për përcaktimin e klorit me metodë me elektrodë jono-selektive

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
ISE Aparati SINO 005	20	100.8	2.9	2.8 %	< 10 %

Klori (mmol/l)

Mean	100.8
Median	100
Standard Deviation	2.9
Sample Variance	8.1
Minimum	96.9
Maximum	105.5
Count	20
Confidence Level (95.0%)	1.3
Koeficienti i variacionit %	2.8

Nga të dhënat e tabelës 1.19, shihet qartë, që koeficienti i variacionit C.V është 2.8 %.

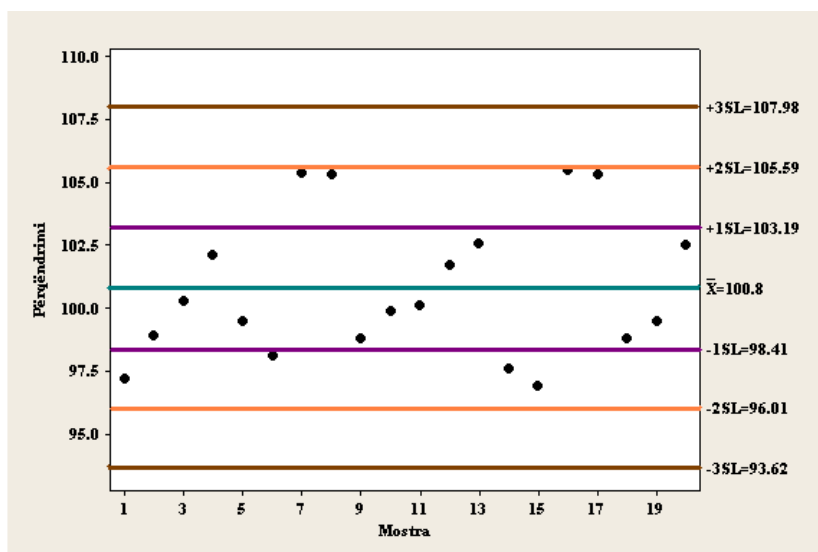


Figura 1.9. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 60% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 40% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm 2SL), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Në laboratorët mjekësorë, një metodë konsiderohet me përsëritshmëri të mirë, kur koeficienti i variacionit, në matjet paralele brenda serisë është më i vogël se sa 10%.

Pra mund të themi, që matja e klorit me teknikën ISE, duke përdorur elektrolitmetrin SINO 005 është e besueshme për t'u përdorur si metodë krahasuese.

Krahas studimit të saktësisë brenda serisë për matjen e klorureve me metodën ISE, u studiua dhe saktësia brenda serisë për matjen e klorureve me metodë kolorimetrike me tiocianat mërkuri.

Për të gjykuar mbi saktësinë brenda serisë dhe përsëritshmërinë e metodës përzgjedhëm një serum kontrolli Normal Duna Cont N prodhim i firmës Diagnosticum, Lot No. 9964.

Përqëndrimi i klorit në këtë kontroll është 104 mmol/l ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 98-110 mmol/l .

Ky serum kontrolli u punua me metodën kolorimetrike me 20 paralele. Mostrat analitike u matën në fotometrin BTS- 310 PLUS në programin e kloremisë.

Me këto të dhëna, u llogarit mesatarja aritmetike \bar{x} , shmangia standarde S D (σ), koeficienti i variacionit C. V % si dhe u ndërtua diagrami i kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e fituara nga ky përpunim paraqiten në tabelën e mëposhtme:

Tab 1.20. Studimi i saktësisë brenda serisë, për përcaktimin e klorit me metodë kolorimetrike me tiocianat mërkuri

Klori (mmol/l)

Mean	104
Median	104
Standard Deviation	1.3
Sample Variance	1.7
Minimum	102
Maximum	106
Count	20
Confidence Level (95.0%)	0.6
Koeficienti i variacionit %	1.3

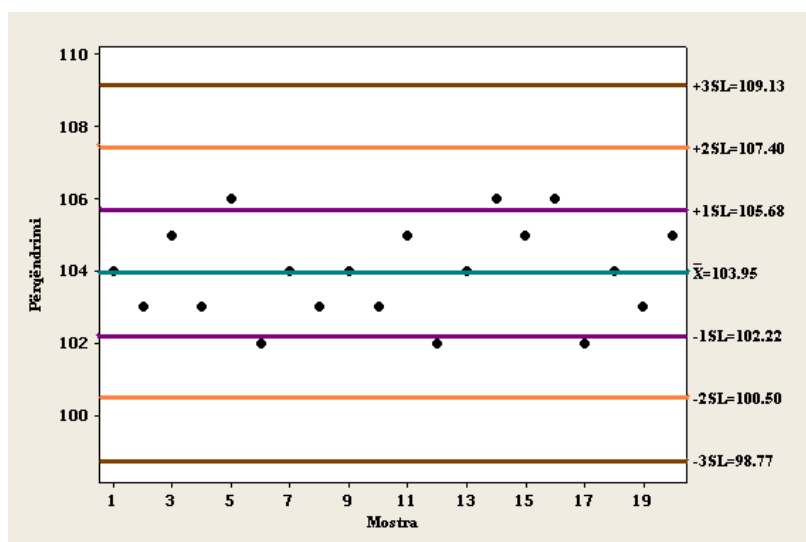


Figura 1.10. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 70% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 30% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm 2SL), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Tabela 1.21. Të dhënat e përpunimit statistikor, për studimin e saktësisë brenda serisë, gjatë përcaktimit të klorit me metodë kolorimetrike me tiocianat

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
Studimi i saktësisë brenda serisë studiuar në kushtet tona	20	104	1.3	1.3	< 10
Studimi i saktësisë brenda serisë cituar në literatura	20	83.75	2.022	2.41	

Të dhënat e tabelës 1.21, vënë në dukje, që kiti analitik kolorimetrik me tiocianat për përcaktimin e klorureve, ka përsëritshmëri shumë të mirë, me një koeficient variacioni më të vogël se sa 5 %.

Në laboratorët mjekësorë, një metodë konsiderohet me përsëritshmëri të mirë, kur koeficienti i variacionit, në matjet paralele brenda serisë është më i vogël se sa 10%.

Në lidhje me studimin e metodës, për përcaktimin e klorureve me metodë kolorimetrike me tiocianat mërkuri, në serumin e gjakut, mund të nxjerrim këto përfundime:

- Metoda kolorimetrike, për përcaktimin e klorureve në serum është e thjeshtë dhe mund të realizohet në çdo laborator, që zotëron një fotometër me të paktën një filtër optik në pjesën e gjelbër të spektrit të dukshëm;
- Studimi matematiko-statistikor tregon, që kjo metodë është e njëvlershme me metodën me elektrodë jono-selektive, për përcaktimin e klorureve;
- Metoda kolorimetrike, për matjen e klorureve është lineare deri në 200 mmol/l. Lineariteti i saj plotëson kushtet, për matjen e klorureve në serum, plazmë dhe lëngun truno-shpinor, pa holluar materialin biologjik. Për përcaktimin e klorureve në urinën e 24 orëve është e nevojshme, që të hollohet paraprakisht urina në raportin 1:2, për të hyrë në zonën e linearitetit;
- Studimi i saktësisë brenda serisë tregon, që metoda ka një saktësi shumë të mirë, për t'u përdorur në kushte laboratorike të përditshme;

4. MAGNEZI

4.1. Studimi i metodës kolorimetrike (me reagentin Xylidyl Blu) për përcaktimin e magnezit në lëngjet biologjike

Magnezi është një elektrolit brenda qelizor dhe është mjaft i rëndësishëm për organizmin. Ashtu si dhe kaliumi, magnezi është më i përqëndruar në hapësirën brenda qelizore. Ai merr pjesë aktive në rregullimin e përshkueshmërisë së membranës qelizore.

Një numër i madh studimesh kanë treguar, që mungesa e Mg lidhet me çrregullimet e Ca, fosfateve dhe kaliumit, gjatë çrregullimeve kardiake sidomos në aritminë ventrikulare, e cila është rezistente ndaj mjekimit klasik.

Ndër metodat e tjera, të cilat përdoren për matjen e magnezit, një metodë e optimizuar, për matjen e magnezit në serum është metoda kolorimetrike me reagentin xylidyl blu.

4.1.1 Parimi i metodës

Në këtë metodë analitike, jonet magnez të pranishëm në materialin biologjik, hyjnë në reaksion me kromogjenin xylidyl blu, me të cilin në mjedis alkaline, japin një kompleks të ngjyrosur. Ky kompleks i ngjyrosur ka një maksimum absorbimi në pjesën e gjelbër të spektrit të dukshëm, kryesisht në $\lambda = 505$ nm.

Intensiteti i ngjyrës së formuar ose madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e joneve të magnezit, që analizohen.

Për të shmangur influencën e joneve Ca^{2+} , në përcaktimin e joneve Mg përdoret kelati EGTA.

Në këtë punim u përdor kiti analitik i formës Futura System Roma Italy, me numër katalogu 5102, ndërsa matjet u bënë në fotometrën e programueshme BTS 310 Plus.

4.1.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur

Reagenti analitik

Tampon Tris pH 12	200 mmol/l
Blu di Xilidile II	0.12 mmol/l
EGTA	0.06 mmol/l
Karbonat Kaliumi	69 mmol/l
Alkol etilik	2.1 mol/l
Azid natriumi	< 0.1%

Ky reagent është i gatshëm për punë dhe nuk kërkon asnjë procedurë përgatitore paraprake.

Standard magnezi 2.5 mg/dl

4.1.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit

Kiti analitik ruhet në temperaturë ambienti. N.q.s përdoret sipas rregullave analitike është i qëndrueshëm deri në datën e skadencës, që tregohet në etiketën e tij. Për sa i përket tretësirës standarde, n.q.s ajo menaxhohet me kujdes (shmanget kontaminimi, evaporimi dhe hollimi) është e qëndrueshme deri në datën e skadencës, që tregohet në etiketën e saj.

4.1.4 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë

- Serumi i freskët i gjakut, i pahemolizuar
- Plazmë e heparinizuar
- Lëngu truno-shpinor
- Urinë e 24 orëve (Mostra e urinës 24 orëshe, acidifikohet me 2-3 pika acid klorhidrik HCl e koncentruar, derisa pH i saj të arrijë vlerën 3 deri në 4. Më tej kjo mostër urine hollohet me ujë destile në raportin 1: 5)

4.1.5 Metoda analitike

Procesi analitik zhvillohet sipas skemës së mëposhtme:

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	10 µl	-----	-----
Standard	-----	10 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	10 µl
Reagent analitik	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml

Tubat analitikë përzihen mirë, mundësisht në Vortex dhe inkubohen 10 minuta në temperaturë ambiente ose 5 min në 37° C.

Absorbancat u matën në fotometrin e programueshëm BTS 310 Plus në gjatësinë e valës 505 nm, në programin e magnezit.

4.1.6 Llogaritja e rezultatit të analizës

Formulat për llogaritjen e rezultatit të analizës janë ato, që derivojnë nga aplikimi i ligjit të Lambert-Beerit.

Magnezi në serum apo në plazmën e heparinizuar

$$\text{Magnez (mg/dl)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}}$$

$$\text{Mg (mg/dl)} = \frac{A_{\text{analizës}} - A_{\text{blankut}}}{A_{\text{standardit}} - A_{\text{blankut}}} * 2.5 \text{ mg/dl}$$

Magnezi në porcion urinë

$$\text{Mg (mg/dl)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}} * 5$$

$$\text{Mg (mg/dl)} = \frac{A_{\text{analizës}} - A_{\text{blankut}}}{A_{\text{standardit}} - A_{\text{blankut}}} * 2.5 \text{ mg/dl} * 5$$

Magnezi në urinën e 24 orëve (24 h)

$$\text{Magnez (mg/24 h)} = \frac{\text{Magnezi në urinë}}{100} * \text{Volumi urinës për 24 orë (në ml)}$$

Sipas të dhënave të kitit, përqëndrimi i magnezit, në lëngjet biologjike, në pacientët normalë është:

4.1.7 Vlerat normale të kitit analitik

Serum ose plazëm	1.9 – 2.5 mg/dl
Lëngu truno-shpinor	2.4 – 3.1 mg/dl
Urina e 24 h	75 – 125 mg/24 h

Elementët kryesorë të programit të magnezit, në fotometrin e programueshëm BTS 310 Plus në gjatësinë e valës 505 nm janë:

Metoda	End-Point me standard
Njësia	mg/dl
Filtri i leximit	505 nm
Zerimi i fotometrit	kundrejt H ₂ O destile
Kyveta matëse	1 cm rruga optike
Koha e leximit	5 sekonda
Koha e inkubimit	300 sekonda
Temperatura e kyvetës	37° C
Volumi i thithjes	900 µl
Drejtimi i reaksionit	ngritës (positive slope)
Standardi	2.5 mg/

4.2 Studimi i metodës kolorimetrike (me reagentin calmagit) për përcaktimin e magnezit në lëngjet biologjike

4.2.1 Parimi i metodës

Metoda analitike është kolorimetrike, ku kromogjeni është calmagit dhe është në thelb metodë End-Point.

Në këtë metodë analitike, jonet magnez të pranishëm në materialin biologjik, hyjnë në reaksion me kromogjenin calmagit, me të cilin në mjedis alkalin japin një kompleks të ngjyrosur. Ky kompleks i ngjyrosur ka një maximum absorbimi në pjesën e gjelbër të spektrit të dukshëm, kryesisht në brezin spektral 500-510 nm.

Intensiteti i ngjyrës së formuar ose madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e joneve të magnezit, që analizohen.

Për të shmangur influencën e joneve Ca^{2+} , në përcaktimin e joneve Mg përdoret kelati EGTA.

Në këtë punim u përdor kiti analitik i formës ELITech, me numër reference MAGN-0600, ndërsa matjet u bënë në fotometrin e programueshëm BA 88.

4.2.2 Përbërja e reagentëve të kitit analitik të përdorur

Reagent R₁

2-metil-2- amino-1-propanol	1 mol/l
EGTA	215 µmol/l

Reagent R₂

Calmagit	300 µmol/l
----------	------------

Standard magnezi	2 mg/dl
-------------------------	---------

4.2.3 Ruajtja dhe qëndrueshmëria e reagentëve të kitit

Reagentët e kitit analitik janë të qëndrueshëm deri në datën e skadencës, n.q.s kiti ruhet në temperaturë 2-8 °C .

4.2.4 Përgatitja e reagentit të punës

Për të përgatitur reagentin e punës, përzihen në volume të barabarta reagenti 1 dhe reagenti 2. Reagenti i punës është i qëndrueshëm për 24 h, n.q.s ruhet në temp 20-25 °C dhe për 4 ditë, nëse mbahet në frigorifer në temperaturë 2- 8°C.

4.2.5 Materiali biologjik i vlefshëm për analizë

- Serumi i freskët i gjakut, i pahemolizuar
- Plazmë e heparinizuar
- Urinë e 24 orëve (Mostra e urinës 24 orëshe hollohet me ujë destile në raportin 1: 5 dhe acidifikohet me 2-3 pika acid klorhidrik HCl të koncentruar, derisa pH i saj të arrijë vlerën 1).

4.2.6 Metoda analitike

Procesi analitik zhvillohet sipas skemës së mëposhtme:

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	10 µl	-----	-----
Standard	-----	10 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	10 µl
Reagent analitik	1 ml	1 ml	1 ml

Tubat analitikë përzihen mirë dhe inkubohen 5 min në temperaturë 37° C.

Absorbancat u matën në fotometrën e programueshëm BA 88 në gjatësinë e valës 500 nm, në programin e magnezit.

4.2.7 Llogaritja e rezultatit të analizës

Formulat për llogaritjen e rezultatit të analizës janë ato, që derivojnë nga aplikimi i ligjit të Lambert - Beerit.

Magnezi në serum apo në plazmën e heparinizuar

$$\text{Magnez (mg/dl)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}}$$

$$\text{Mg (mg/dl)} = \frac{A_{\text{analizës}} - A_{\text{blankut}}}{A_{\text{standardit}} - A_{\text{blankut}}} * 2 \text{ mg/dl}$$

Magnezi në porcion urine

$$\text{Mg (mg/dl)} = \frac{\text{Abs analizës} - \text{Abs blankut}}{\text{Abs standardit} - \text{Abs blankut}} * C_{\text{standardit}} * 5$$

$$\text{Mg (mg/dl)} = \frac{A_{\text{analizës}} - A_{\text{blankut}}}{A_{\text{standardit}} - A_{\text{blankut}}} * 2 \text{ mg/dl} * 5$$

Magnezi në urinën e 24 orëve (24 h)

$$\text{Magnez (mg/24 h)} = \frac{\text{Magnezi në urinë}}{100} * \text{Volumi urinës për 24 orë (në ml)}$$

Sipas të dhënave të kësaj, përqëndrimi i magnezit në lëngjet biologjike, në pacientët normalë është:

4.2.8 Vlerat normale të kitit analitik

Serum ose plazëm	1.7 – 2.4 mg/dl 0.70 – 0.99 mmol/l
Urina e 24 h	73 – 122 mg/24 h 3 – 5 mmol/24 h

Elementët kryesorë të programit të magnezit, në fotometrën e programueshëm BA 88 janë:

Metoda	End-Point me standard
Njësia	mg/dl
Filtri i leximit	500 nm
Zerimi i fotometrit	kundrejt H ₂ O destile
Kyveta matëse	1 cm rruga optike
Koha e leximit	5 sekonda
Koha e inkubimit	60 sekonda

Temperatura e kyvetës	37° C
Drejtimi i reaksionit	ngritës (positive slope)
Standardi	2 mg/dl

4.3 Studimi eksperimental i metodës me reagentin xylidyl blu dhe metodës me reagentin calmagit, për përcaktimin e magnezit në serum in e gjakut, në kushtet e laboratorëve tanë

Në pamundësi për të krahasuar metodën me xylidyl blu, për përcaktimin e magnezit me metodën e spektrofotometrisë me absorbim atomik, u bë krahasimi me metodën e përcaktimit të magnezit me calmagit.

Në mjaft raste, midis laboratorëve të ndryshëm, ka diskordanca në lidhje me rezultatin e analizës. Në studimin tonë, ne krahasuam dy metodat e lartpërmendura, për të gjykuar nëse këto diskordanca janë të lidhura me thelbin e metodave analitike, apo me zbatimin e tyre praktik, në mënyrë jo korrekte.

Për të realizuar këtë qëllim, ne përcaktuam magnezin me të dy metodat, në serum in e gjakut të 20 pacientëve, pa çrregullime të metabolizmit të magnezit.

Skema eksperimentale është si më poshtë vijon:

- U përftua serumi i gjakut të 20 pacientëve të shëndoshë, gjaku i të cilëve u mor në tuba me xhel dhe serumi i gjakut u siguroa me anë të teknikës standarde;
- U përdor kiti analitik i firmës FUTURA System për përcaktimin e magnezit, me metodën me xylidyl blu;
- U përdor kiti analitik ELITech, për të matur magnezin me metodën me calmagit;
- Matjet u bënë me fotometr in e programueshëm BTS 310 Plus të firmës Biosystems dhe BA 88 , në gjatësinë e valës 505 nm, në program in e magnezit;
- Të dhënat e fituara nga matjet e mësipërme, u përpunuan statistikisht duke llogaritur vlerën mesatare, shmangien standarde S D, koeficientin e korrelacionit r, ekuacionin e regresionit dhe T-testin;

Të dhënat e fituara nga matjet dhe përpunimi i tyre matematiko-statistikor jepet në tabelat e mëposhtme:

Tabela 1.22. Krahasimi statistikor i rezultateve të magnezit, me metodë me xylidyl blu dhe me calmagit

Metoda e matjes	Numri i matjeve n	Vlera mesatare (mg/dl)	Shmangia standarde (mg/dl)	Ekuacioni i regresionit
Metoda analitike me xylidyl blu (y)	20	1.170	0.191	$y = 0.98x + 0.01$
Metoda analitike me calmagit (x)	20	1.185	0.194	$Mg \text{ (xylidyl blu)} = 0.98 * Mg \text{ (calmagit)} + 0.01$

Anova: Single Factor

Groups	Count	Sum	Average	Variance
Magnezi me xylidyl blu	20	23.4	1.17	0.036
Magnezi me calmagit	20	23.7	1.185	0.038

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.002	1	0.002	0.061	0.807	4.098
Within Groups	1.408	38	0.037			
Total	1.410	39				

Nga tabela e mësipërme shikojmë që $F_{\text{logarituar}} = 0.061 < F_{\text{Kritike}} = 4.098$ si dhe $p = 0.807 > 0.05$, pra nuk ka ndryshime të rëndësishme ndërmjet shmangieve standarde të dy metodave.

Tabela 1.23. Krahasimi i rezultateve të magnezit me metodën kolorimetrike me reagentin calmagit dhe xylidyl blu

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

	Magnezi	Calmagit	Xylidyl blu
Mean		1.185	1.17
Variance		0.038	0.036
Observations		20	20
Hypothesized Mean Difference		0	
df		38	
t Stat		0.246	
P(T<=t) one-tail		0.403	
t Critical one-tail		1.686	
P(T<=t) two-tail		0.807	
t Critical two-tail		2.024	

Analiza e të dhënave të tabelës vë në dukje, se nuk ka asnjë ndryshim statistikor sinjifikativ, midis vlerave mesatare të magnezit, të marrë me të dy metodat, me metodën me calmagit dhe me metodën me xylidyl blu.

Kjo do të thotë, që për sa i përket saktësisë së matjes të magnezit në serum in e gjakut, të dyja metodat janë të njëjlershme.

Matematikisht kjo vërtetohet dhe nga testi i studentit, T-testi, ku $t_{\text{statistikore}} = 0.246$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 2.024$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$.

Gjithashtu $p = 0.807 > 0.05$.

Koeficienti i korrelacionit është $r = 0.9998$ dhe $r^2 = 0.9997$, gjë që tregon që për matjen e magnezit në serumin e gjakut, metodat e lartpërmendura kanë një korrelacion shumë të mirë me njëra-tjetrën.

Pra, mund të themi se n.q.s metodat zbatohen në përputhje me kushtet e tyre teknologjike dhe analitike, rezultatet janë të njëjta.

4.4 Studimi i kufirit të linearitetit

Si kit analitik për studimin e metodës, u përdor kiti i firmës FUTURA SYSTEM S.r.l. REF N° 5102, ndërsa si fotometër matës u zgjodh fotometri BTS 310 Plus të firmës Biosystems, për faktin se është fotometri, që përdoret në laboratorët e vegjël dhe të mesëm të vendit tonë.

Dihet që përqëndrimi maksimal, për të cilin vërtetohet gjatë matjeve fotometrike ligji i Lambert-Beer, quhet kufi i linearitetit. Mbi këtë përqëndrim nuk mund të bëhen matje, pa përdorur teknikat e hollimit.

Sipas të dhënave të literaturës, përqëndrimi i magnezit në lëngjet biologjike, në pacientët normalë është:

Vlerat normale

Serum ose plazëm	1.9 – 2.5 mg/dl
Lëngu truno-shpinor	2.4 – 3.1 mg/dl
Urina e 24 h	75 – 125 mg/24 h

Në kushte patologjike, në varësi të sëmundjes, përqëndrimi i magnezit në serum ndryshon nga 0.5 mg/dl në 1.6 mg/dl (hipomagnezemia) dhe nga 2.6 mg/dl në 5 mg/dl (hipermagnezemia)

Ulja e magnezit nën 0.5 mg/dl dhe rritja e tij mbi 5 mg/dl është e papajtueshme me jetën. Duket qartë, që kufiri i linearitetit, pra varësia proporcionale, midis përqëndrimit dhe absorbancës prek një interval të gjerë të përqëndrimeve.

Studimi i kufirit të linearitetit u bë sipas kësaj metodike:

- U përgatit një seri tretësirash standarde me përqëndrime 0 mg/dl, 0.5 mg/dl, 1 mg/dl, 2 mg/dl, 3 mg/dl, 4 mg/dl, 5 mg/dl dhe 6 mg/dl; Tretësirat e mësipërme standarde, u përgatitën duke përdorur klorur magnezi i firmës Merck, të tharë deri në peshë konstante dhe ujë të dejonizuar;
- Tretësirat e mësipërme standarde u punuan si analiza, me metodën kolorimetrike me xylidyl blu, ndërsa absorbancat u matën në fotometrin BTS 310 Plus, në gjatësinë e valës 505 nm;

Të dhënat e fituara jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.24. Studimi i kufirit të linearitetit të metodës kolorimetrike me xylidyl blu, për përcaktimin e magnezit në lëngjet biologjikë

Përqëndrimi i tretësirës mg/dl	0	0.5	1	2	3	4	5	6
Absorbanca e matur	0.08	0.11	0.15	0.31	0.46	0.60	0.75	0.8

Me të dhënat e mësipërme u ndërtua lakorja e kalibrimit, duke vendosur në boshtin horizontal përqëndrimet dhe në atë vertikal absorbancat.

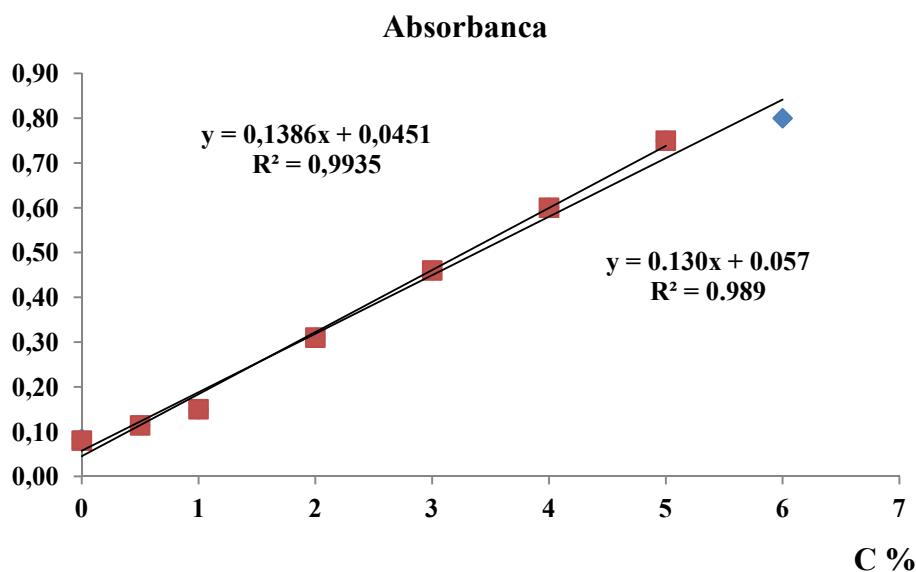


Figura 1.11. Studimi i kufirit të linearitetit për metodën e përcaktimit të magnezit me xylidyl blu

Të dhënat e tabelës 1.24, dhe grafikut 1.11, vënë në dukje që metoda është lineare deri në 5 mg/dl.

Në grafikun e parë, i cili përfitohet nga të gjitha të dhënat e tabelës së mësipërme, ekuacioni i drejtëzës është i formës :

$$y = 0.130x + 0.057 \text{ dhe } R^2 = 0.989$$

Meqenëse nga grafiku vihet re, që metoda e studiuar e ka kufirin e linearitetit deri në 5 mg/dl, ndërtohet një grafik i dytë i cili është i formës:

$$y = 0.138x + 0.045 \text{ dhe } R^2 = 0.993$$

Ky kufi i linearitetit është i mjaftueshëm, për matjen e përqëndrimit të magnezit në serum. Për këtë arsye, gjatë përcaktimit të magnezit në serum, nuk është e nevojshme përdorimi i teknikës së hollimit dhe koeficienti i hollimit në programin fotometrik vendoset 1.

Gjatë matjes së magnezit në urinë, hollimi paraprak është i domosdoshëm, për t'u respektuar kufiri i linearitetit.

Në rastin e përcaktimit të magnezit në porcion urine apo në urinën e 24 orëve, mostrave i shtohen 2-3 pika acid klorhidrik, për të arritur pH 3- 4 dhe pastaj hollohet 1:5 me ujë të destiluar. Urina e acidifikuar do të ngrohet në temperaturën 60° C, për 15 minuta në banjo mari dhe pastaj përzihet mirë, përpara se të analizohet. Konkretisht, mostrat e urinës punohen analitikisht njësoj si mostrat e serumit dhe pastaj maten në fotometrën e programueshëm, duke përdorur koeficientin e hollimit në programin fotometrik.

Sipas të njëjtës praktikë pune, u studiua lineariteti i metodës kolorimetrike të përcaktimit të magnezit me reagentin calmagit.

Të dhënat e fituara jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.25. Studimi i kufirit të linearitetit të metodës kolorimetrike me calmagit, për përcaktimin e magnezit në lëngjet biologjike

Përqëndrimi i tretësirës mg/dl	0	0.5	1	2	3	4	5	6
Absorbanca e matur	0.04	0.085	0.161	0.344	0.474	0.582	0.773	0.901

Absorbanca

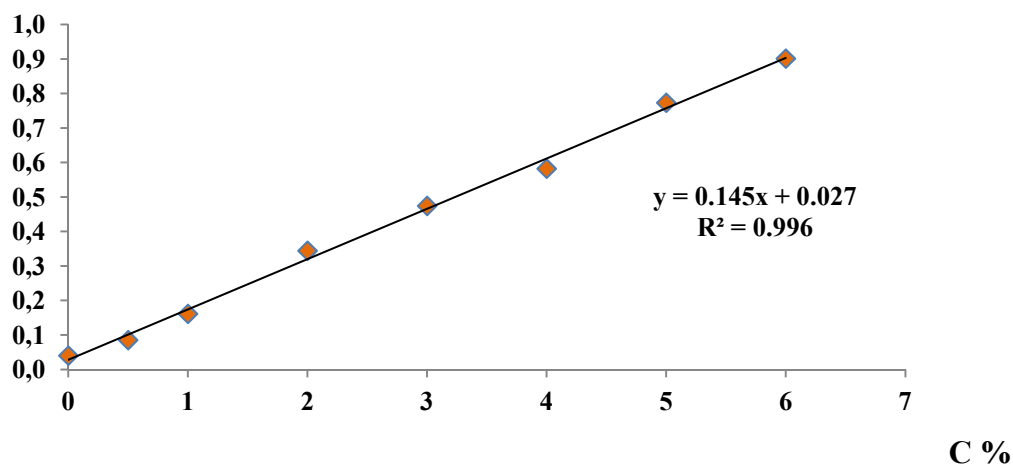


Figura 1.12. Studimi i kufirit të linearitetit për metodën e përcaktimit të magnezit me calmagit

Të dhënat e tabelës 1.25 dhe grafikut 1.12, vënë në dukje, që metoda është lineare deri në 6 mg/dl.

Sipas grafikut, i cili përfitohet nga të dhënat e tabelës së mësipërme, ekuacioni i drejtëzës është i formës :

$$y = 0.145x + 0.027 \text{ dhe } R^2 = 0.996$$

Nga grafiku vihet re, që metoda e studiuar e ka kufirin e linearitetit deri në 6 mg/dl.

Ky kufi i linearitetit është i mjaftueshëm për matjen e përqëndrimit të magnezit në serum. Për këtë arsye, gjatë përcaktimit të magnezit në serum edhe me këtë metodë, nuk është i nevojshëm përdorimi i teknikës së hollimit dhe koeficienti i hollimit në programin fotometrik vendoset 1.

4.5 Ndjeshmëria e kitit analitik dhe përqëndrimi minimal i dedektueshëm

Dihet se vlerat normale të magnezit në serum ose plazëm me metodën me xylidyl blu janë 1.9- 2.5 mg/dl.

Vlera minimale e pajtueshme me jetën është 0.5 mg/dl, ndërsa vlera maksimale e pajtueshme me jetën është 5 mg/dl.

Kufiri i diktimit (Baraj & Shehu, 2012)

Konkretisht nga matja 20 herë e provës së bardhë, me fotometër BTS 310 PLUS, në gjatësinë e valës 505 nm, rezulton që $y_B = 0.084$ dhe Shmangia standarde = 0.003.

$$y - y_B = 3 S_B$$

Sinjali i kufirit të diktimit është $y = 0.094$

Kufiri i diktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.138x + 0.045$ do të jetë:

$$KD = 0.36 \text{ mg/dl}$$

Kufiri i përcaktimit

$$y = y_B + 10 S_B$$

Sinjali i kufirit të përcaktimit është $y = 0.11$

Kufiri i përcaktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.138x + 0.045$ do të jetë:

$$KP = 0.47 \text{ mg/dl}$$

Gjithashtu në përcaktimin e magnezit me reagentin calmagit rezultoi që nga matja 20 herë e provës së bardhë, $y_B = 0.04$ dhe shmangia standarde = 0.006.

$$y - y_B = 3 S_B$$

Sinjali i kufirit të diktimit është $y = 0.057$

Kufiri i diktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.145x + 0.027$

$$KD = 0.21 \text{ mg/dl}$$

Kufiri i përcaktimit

$$y = y_B + 10 S_B$$

Sinjali i kufirit të përcaktimit është $y = 0.1$

Kufiri i përcaktimit nëpërmjet ekuacionit $y = 0.145x + 0.027$

$$KP = 0.49 \text{ mg/dl}$$

Nga ekuacioni i mësipërm $y = 0.138x + 0.045$ rezulton, se ndjeshmëria e metodës kolorimetrike me reagentin xylidyl blu e përcaktimit të magnezit është 0.138 mg/dl.

Gjithashtu nga ekuacioni $y = 0.145x + 0.027$ rezulton, se ndjeshmëria e metodës kolorimetrike me reagentin calmagit e përcaktimit të magnezit është 0.145 mg/dl.

Nga llogaritjet e mësipërme, vërehet se në të gjitha rastet, përfshihet intervali patologjik i ndryshimit të magnezit.

4.6 Studimi i saktësisë brenda serisë për përcaktimin e magnezit me metodën kolorimetrike me reagentin calmagit dhe me metodën me reagentin Xylidyl Blu

Që një metodë analitike të jetë e besueshme është e nevojshme, që ajo të ketë përsëritshmëri të mirë.

Një ndër metodat për të studiuar përsëritshmërinë është përcaktimi i saktësisë brenda serisë.

Për të realizuar këtë qëllim, përzgjidhet një standard i certifikuar apo një serum kontrolli, me vlerë të njohur, të elementit që studiohet, të matur me një nga metodat analitike të referencës.

Ne përzgjidhëm një serum kontrolli, me vlera normale, Duna Count N, Lot 16714, i firmës Diagnosticum.

Konkretisht, përqëndrimi i magnezit në këtë serum kontrolli është 1.77 mg/dl, ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 1.49 – 2.06 mg/dl .

Duke përdorur këtë serum, u bënë 20 matje paralele të magnezit, duke aplikuar metodën kolorimetrike me reagentin calmagit. Mostrat analitike u matën në fotometrin BTS-310 PLUS në programin e magnezit.

Këto të dhëna, u përpunuan nga pikëpamja matematiko statistikore, duke llogaritur vlerën mesatare \bar{x} , shmangia standarde SD (σ), koeficientin e variacionit C.V % si dhe duke ndërtuar diagramin e kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e përpunuara statistikisht jepen në tabelën e mëposhtme.

Tabela 1.26. Studimi i saktësisë brenda serisë, për matjen e magnezit me metodën kolorimetrike, me reagentin calmagit

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mg/dl)	Shmangia standarde (mg/dl)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
Metoda analitike me calmagit	20	1.8	0.09	5.1	< 10 %

Magnezi(mg/dl)

Mean	1.8
Median	1.8
Standard Deviation	0.09
Sample Variance	0.01
Minimum	1.60
Maximum	1.90
Count	20.00
Confidence Level (95.0%)	0.04
Koeficienti i variacionit %	5.10

Nga të dhënat e tabelës 1.26, shihet qartë, që koeficienti i variacionit C.V është 5 %.

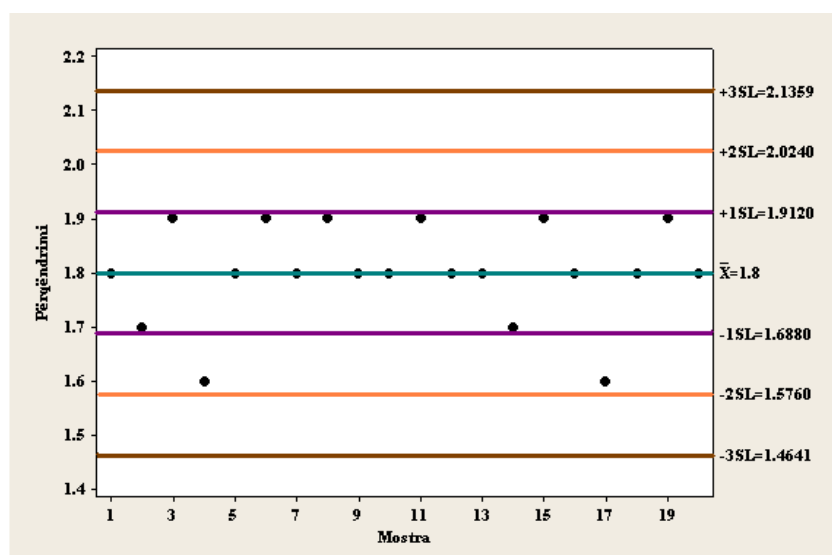


Figura 1.13. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 90% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 10% e vlerave

të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare $\pm 2SL$), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Në laboratorët mjekësorë, një metodë konsiderohet me përsëritshmëri të mirë, kur koeficienti i variacionit, në matjet paralele brenda serisë është më i vogël se sa 10%.

Pra mund të themi, që matja e magnezit me metodën kolorimetrike, me reagentin calmagit, duke përdorur fotometrën BTS- 310 PLUS është e besueshme për t'u përdorur si metodë krahasuese.

Krahas studimit të saktësisë brenda serisë për matjen e magnezit me metodën kolorimetrike me reagentin calmagit, u studiua dhe saktësia brenda serisë për matjen e magnezit me metodë kolorimetrike me xylidyl Blu.

Për të gjykuar mbi saktësinë brenda serisë dhe përsëritshmërinë e metodës, përzgjedhëm një serum kontrolli me vlera normale, Duna Count N, Lot 16714, i firmës Diagnosticum.

Përqëndrimi i magnezit në këtë serum kontrolli është 1.77 mg/dl ndërsa intervali i lejuar i vlerave është 1.49 –2.06 mg/dl.

Ky serum kontrolli u punua me metodën kolorimetrike me 20 paralele. Mostrat analitike u matën në fotometrën BTS-310 PLUS në programin e magnezit.

Me këto të dhëna, u llogarit mesatarja aritmetike \bar{x} , shmangia standarde S D(σ), koeficienti i variacionit C.V % si dhe u ndërtua diagrami i kontrollit të cilësisë.

Të dhënat e fituara nga ky përpunim paraqiten në tabelën e mëposhtme:

Tabela 1.27. Studimi i saktësisë brenda serisë, për matjen e magnezit me metodën kolorimetrike, me reagentin me xylidyl Blu

Magnezi(mg/dl)

Mean	1.77
Median	1.75
Standard Deviation	0.09
Sample Variance	0.01
Minimum	1.6
Maximum	1.9
Count	20
Confidence Level (95.0%)	0.04
Koeficienti i variacionit %	5.0

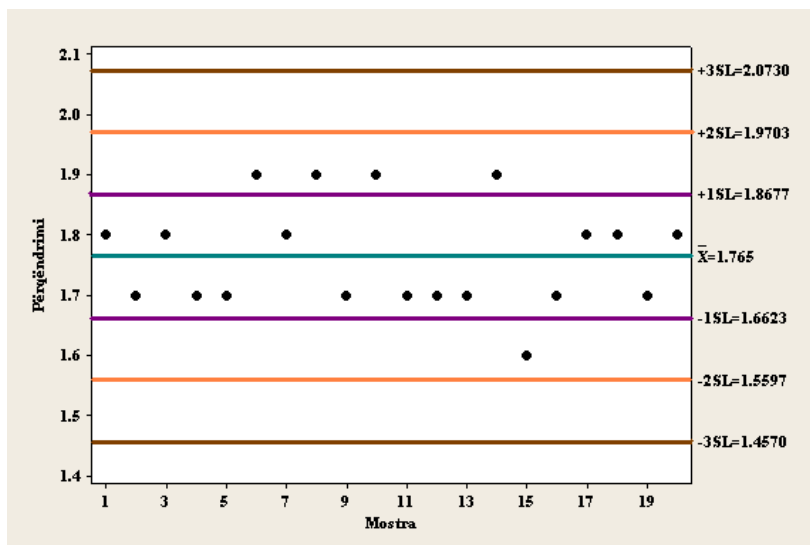


Figura 1.14. Diagrami i kontrollit të cilësisë

Nga grafiku i mësipërm vihet re se procesi është nën kontroll të plotë, ku 75% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm SL) dhe 25% e vlerave të përcaktuara bien brenda intervalit (vlerë mesatare \pm 2SL), pra nuk ka gabime në përcaktim.

Tabela 1.28. Të dhënat e përpunimit statistikor, për studimin e saktësisë brenda serisë, gjatë përcaktimit të magnezit, me metodë kolorimetrike me xylidyl blu

Metoda e përdorur	Numri i matjeve paralele n	Vlera mesatare (mg/dl)	Shmangia standarde (mg/dl)	Koeficienti i variacionit C.V%	Koeficienti i lejuar i variacionit C.V%
Studimi i saktësisë brenda serisë studiuar në kushtet tona	20	1.77	0.09	5	< 10
Studimi i saktësisë brenda serisë cituar në literatura	20	2.4965	0.030	1.20	

Të dhënat e tabelës vënë në dukje, që kiti analitik kolorimetrik me xylidyl blu për përcaktimin e magnezit, ka përsëritshmëri shumë të mirë, me një koeficient variacioni 5 %.

Në laboratorët mjekësorë, një metodë konsiderohet me përsëritshmëri të mirë, kur koeficienti i variacionit, në matjet paralele brenda serisë është më i vogël se sa 10%.

Në lidhje me studimin e metodës, për përcaktimin e magnezit në serum të gjakut, me metodë kolorimetrike me xylidyl blu dhe me calmagit, mund të nxjerrim këto përfundime:

- Metoda kolorimetrike me xylidyl blu, për përcaktimin e magnezit në serum është e thjeshtë dhe e saktë;
- Metoda kolorimetrike me xylidyl blu, për përcaktimin e magnezit në serum është e përshtatshme, si për fotometrat normalë, ashtu edhe për analizatorët anatomikë biokimikë;
- Metoda kolorimetrike me xylidyl blu, për përcaktimin e magnezit në serum është një alternativë e vlefshme, për përcaktimet rutinë të magnezit në laboratorët mjekësorë, pasi ka ndjeshmëri të lartë;
- Studimi matematiko-statistikor tregon, që metoda kolorimetrike me xylidyl blu dhe metoda kolorimetrike me calmagit janë të njëvlershme, pra n.q.s metodat zbatohen, në përputhje me kushtet e tyre teknologjike dhe analitike, rezultatet janë të njëjta;
- Metoda kolorimetrike me xylidyl blu dhe calmagit, për përcaktimin e magnezit në serum, zotërojnë kufi të përshtatshëm të linearitetit, që plotësojnë përcaktimet në kushtet patologjike;
- Studimi i saktësisë brenda serisë tregon, që të dyja metodat kanë një saktësi shumë të mirë, për t'u përdorur në kushte laboratorike të përditshme.

Kapitulli II

KRAHASIMI I ELEKTROLITMETRIT SINO 005 ME ELEKTROLITMETRIN EASY LYTE

Metodat analitike të matjes së elektrolitëve janë të larmishme. Ndër këto metoda siç kemi theksuar mund të përmendim:

- Metodat fotometrike
- Analiza spektrale me rrezatim
- Spektrofotometria me absorbim
- Metoda e fluoreshencës
- Metoda me elektroda jono-selektive

Në mjekësinë e sotme laboratorike merr përparësi ajo metodë, që është e saktë, e shpejtë dhe e thjeshtë në realizim.

Një metodë e tillë është metoda me elektroda jono-selektive ISE (Koch, 1985) .

Bazuar në elektrodën jono-selektive janë ndërtuar aparatet elektrolitmetra. Për të bërë të mundur matjen, aparati elektrolitmetër, përdor metodën potenciometrike të analizës (Wang, 1988).

Skema klasike e potenciometrit paraqitet në figurën e mëposhtme:

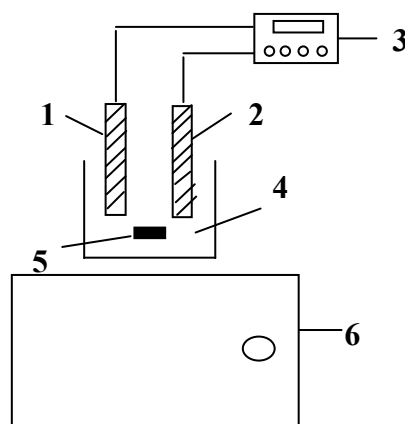


Fig 2.1. Skema principale klasike e metodës potenciometrike

1. Elektroda e referimit
2. Elektroda jono-selektive
3. Matësi pH/mV metër
4. Tretësira analitike apo standarde
5. Thupra manjetike
6. Përzierësi manjetik

Në tregun aktual elektrolitmetrat me elektroda jono-selektive janë të shumtë dhe me opsione nga më të ndryshmet.

Një nga elektrolitmetrat më të përdorur në laboratorët e vendit tonë është elektrolitmetri Easy Lyte, në të gjitha variantet e tij matëse (Na/K, Na/K/Cl, Na/K/Li, Na/K/Ca/pH).

Elektrolitmetri Easy Lyte bazohet në teknologjinë Cartridge. Ky elektrolitmetër është i saktë, i shpejtë, i automatizuar dhe shumë i thjeshtë në përdorim. E vetmja kritikë, që mund t'i bëhet aparatit Easy Lyte është çmimi relativisht i lartë i reagentëve dhe materialeve të konsumit, që përdor ky elektrolitmetër. Nga ana tjetër Easy Lyte është sistem i mbyllur dhe punon vetëm me reagentët e firmës Medica.

Përdorimi i këtij elektrolitmetri në spitale dhe klinika të mëdha, është i justifikuar, pasi kostoja e analizës, nuk ka peshë në krahasim me koston e trajtimeve mjekësore, që bëhen në to.

Në të njëjtën kohë në këto lloj institucionesh, ka një numër të madh përcaktimesh, kështu që me një kalibrim, bëhet një numër i madh analizash. Kjo pa dyshim ul koston e analizës. Nga ana tjetër kjo nuk ndodh në laboratorët e vegjël, ku me një kalibrim të plotë mund të bësh shpesh, vetëm një analizë.

Elektrolitmetri Sino 005 është sistem i hapur dhe kostoja e reagentëve të tij është mjaft ekonomike. Sino 005 është një analizator elektrolitik, me elektroda jono-selektive i bazuar në metodën potenciometrike.

Kjo aparaturë përcakton jonet natrium, kalium, klor dhe kalcium në lëngjet biologjike. Sino 005 mat gjithashtu dhe pH.

Këto matje realizohen shpejt si në serum, plazmë, gjak total apo urinë. Sasia e mostrës analitike, të nevojshme për analizë është 120 µl. Rezultatet e matjeve paraqiten në një ekran LCD dhe printohen në një printer të inkorporuar në aparat.

Aparati Sino 005 bazohet në përdorimin e elektrodave jono-selektive, elektrodës së referimit dhe potenciometrit elektronik.

Softi llogaritës është formula e Nernst:

$$E = E_0 + \frac{2.303RT}{nF} \lg[ax * fx] \quad (\text{Siggaard Anderson, 1986; Bender, 1987})$$

ku:

E → Potenciali elektrik, që lind në elektrodë, nga kontakti me jonet, që do të maten.

E_0 → Konstantja e elektrodës jono selektive

T → Temperatura absolute e shprehur në Kelvin

F → Konstantja e Faradeit, 96 500 Culon

n → Valenca e jonit, që matet

R → Konstantja universale e gazeve, ose konstantja e Boltzman

a_x → Aktiviteti i jonit, që matet

f_x → Moduli i aktivitetit, të jonit, që matet

Aparati Sino 005 mat përqendrimin e Na, K, Cl, Ca dhe përcakton gjithashtu pH-in duke përdorur metodën krahasuese.

Së pari, aparati mat automatikisht me anë të funksionit “Calibration” dy tretësira standarde, me përqëndrime të njohura, duke vendosur korrespondencën midis

përqëndrimeve të njohura dhe potencialeve, që ato krijojnë në elektrodën jono-selektive.

Në këtë mënyrë aparati përcakton lakoren e kalibrimit.

Në etapën e dytë aparati mat potencialin, që krijojnë jonet me përqëndrim të panjohur (analiza) dhe nëpërmjet lakores së kalibrimit, llogarit përqëndrimin e analizës.

Parametrat kryesorë të diapazonit të matjes dhe linearitetit për aparatën Sino 005 jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 2.1. Diapazoni i matjes dhe kufijtë e linearitetit në aparatën Sino 005

Parametri	K ⁺ (mmol/l)	Na ⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	Ca ²⁺ (mmol/l)
Diapazoni i matjes	0.5-10.0	30-200	30-200	0.1-4.0
Diapazoni i linearitetit	2-8	80-180	60-150	0.3-4.0

Në elektrolitmetrin Sino 005 përdoren dy reagentë për kalibrim, CAL A me përqëndrime normale dhe CAL B me përqëndrime patologjike.

Në tabelën e mëposhtme jepen përqëndrimet e tretësirave kalibruese:

Tabela 2.2. Tretësirat kalibruese të aparatit Sino 005

Programi i jonit	K ⁺ (mmol/l)	Na ⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	Ca ²⁺ (mmol/l)	pH log [H ⁺]
CAL A	4.00	140.0	100.0	1.25	7.38
CAL B	8.00	110.0	70.0	2.50	6.84

Përveç tretësirave kalibruese CAL A dhe CAL B, aparati Sino 005 përdor tretësirë pastruese deproteinizuese, tretësirë aktivizuese për elektrodën dhe tretësirë elektrolitike, për mbushjen e elektrodës së referimit.

Për të realizuar qëllimin e studimit, në periudhën 2010-2011, u matën 60 serume normale, ku u përcaktuan Na⁺ dhe K⁺. Serumet u morën nga persona të shëndoshë, të cilët nuk kishin probleme me balancin elektrolitik dhe nuk përdornin medikamente, që mund të ndikonin në këtë bilanc.

Për të përfutur serum, u mor gjak venoz, në tuba me xhel të firmës TERUMO. Pas centrifugimit përkatës, u përfutua serum. Mostrat e serumit, që paraqitën hemolizë, u përjashtuan nga studimi.

Serumet e fituara si më lart u matën për Natrium, Kalium, në aparatën Easy Lyte Na/K dhe në aparatën Sino 005.

Rezultatet e fituara u përpunuan nga pikëpamja statistikore duke llogaritur mesataren aritmetike \bar{x} , \bar{y} , shmangiet standarde $S.D_x$ (σ_x) dhe $S.D_y$ (σ_y), koeficientin e korelacionit r , dhe ekuacionin e regresionit.

Rezultatet e fituara jepen në tabelën e mëposhtme;

Tabela 2.3. Krahasimi statistikor i rezultateve të kaliumit dhe natriumit në serum, matur në aparatet Easy Lyte Na/K dhe Sino 005

Matja e kryer në aparat	Numri i matjeve	Vlera mesatare (mmol/l)	Shmangia standarde (mmol/l)	Korelacioni Ekuacioni i regresionit
Kaliumi i matur në Easy Lyte (x)	60	4.50	0.60	$r = 0.92$
Kaliumi i matur në Sino 005 (y)	60	4.36	0.59	$y = 1.04x - 0.02$
Natriumi i matur në Easy Lyte (x)	60	144	6.0	$r = 0.95$
Natriumi i matur në Sino 005 (y)	60	140	5.0	$y = 1.0x - 4$

Si përfundim nga të dhënat e tabelës 2.3, mund të themi:

- Elektrolitmetri Sino 005 realizon matje të elektrolitëve, me saktësi të njëvlershme, me atë të elektrolitmetrit Easy Lyte Na/K.
- Elektrolitmetri Sino 005 është sistem i hapur dhe më ekonomik, në krahasim me modelet Easy Lyte.
- Elektrolitmetri Sino 005 mund të përdoret me efektivitet ekonomik në laboratorët e vegjël, sidomos në ato të shërbimit ambulator.

Kapitulli III

PËRCAKTIMI I VLERAVE NORMALE TË ELEKTROLITËVE KRYESORË, NË KUSHTET KONKRETE TË LABORATORËVE TANË

3.1 Përcaktimi i vlerave normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve të popullatës së shëndoshë në rrethin e Elbasanit.

Elektrolitët janë shumë të rëndësishëm për rregullimin e disa proceseve thelbësore në organizëm, ndër të cilët më të rëndësishmet janë:

- Rregullimi i bilancit të ujit dhe shpërndarjes së tij në organizëm;
- Rregullimin e ekuilibrit osmotik;
- Rregullimin e ekuilibrit acido-bazik, nëpërmjet menaxhimit të bikarbonateve plazmatike;
- Rregullimin e potencialit elektrik të membranave qelizore;
- Ndikimi në veprimtarinë neuromuskulare;

Që një analizë mjekësore në përgjithësi, apo një analizë biokimike në veçanti, të interpretohet sa më saktë është shumë e rëndësishme, që të njihet intervali i vlerave normale për këtë analizë.

Në përcaktimin e intervaleve normale të analizave të ndryshme, duke përfshirë dhe elektrolitët, ndikojnë mjaft faktorë, ndër të cilët më të rëndësishmit janë:

- Teknikat analitike, me anë të të cilave, realizohet matja e analizave në fjalë;
- Demografia;
- Kushtet gjeo-klimatike të vendit ku banon popullata, që i nënshtrohet analizave;
- Faktorët gjenetikë dhe mënyra e jetesës (Dimeski et al., 2006);

Natyrisht në literaturë, për çdo analizë biokimike, tregohen intervalet e vlerave normale.

Intervalet e vlerave normale, ndodhen gjithashtu në çdo instruksion të kiteve analitike.

Megjithatë sipas rekomandimeve të Federatës Ndërkombëtare të Kimisë Klinike dhe laboratorëve mjekësorë (IFFC), çdo laborator mjekësor në përputhje me teknologjinë analitike që zotëron dhe kushtet e popullatës që mbulon, duhet të përcaktojë vetë intervalet e vlerave normale (Wu AHB, 2006; Henry, 1974).

Një gjë e tillë rrit efikasitetin e analizës biokimike për qëllime diagnostifikimi, mjekimi dhe monitorimi.

Mjekësia e sotme ka të bëjë me shumë probleme shqetësuese për shëndetin e popullatës. Një ndër këta probleme është urolitiazja ose kalkuloza renale (gurët në veshka). Në zhvillimin e kësaj patologjie ndikojnë shumë faktorë (Rose, 1984).

Disa nga këta faktorë janë të lidhur me patologji të organizmit dhe për këtë arsye, ata quhen faktorë të brendshëm (endogjenë). Si faktorë të tillë mund të përmendim çrregullimet e gjëndrave para tiroide dhe tiroide, infeksionet e veshkave, etj (Mazzaferrri, 1980).

Faktorë të tjerë janë të lidhur me mënyrën e të ushqyerjes dhe sidomos të pirjes së ujit të pijshëm. Këta faktorë quhen të jashtëm ose ekzogjenë. Ushqimet dhe pijet e pasura me kalcium dhe magnez janë faktorë riskant dhe ndikojnë në formimin e gurëve në veshka.

Në këtë studim u përcaktua niveli i kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve, në popullatën e zonës së Elbasanit.

Kjo zonë nga pikëpamja gjeografike është një zonë karstike me formacione gëlqerore dhe me ujëra të forta, të pasura me kalcium dhe magnezium. Kjo gjë mund të ndikojë në metabolizmin kalcik të popullatës së shëndoshë të kësaj treve.

Përcaktimi i kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve është mjaft i rëndësishëm, për diagnostifikimin, mjekimin apo monitorimin e shumë patologjive mjekësore.

Në veçanti, mund të përmendim se monitorimi i kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve është i rëndësishëm, për diagnostifikimin dhe parandalimin e gurëve të veshkave, me përmbajtje të lartë të kalciumit dhe magnezit (Winter, 1981).

Në këtë studim, përcaktuam përqëndrimin e kalciumit dhe magnezit, në urinën e 24 orëve, të 60 pacientëve, pa dallim seksi, me moshë nga 15 vjeç deri në 60 vjeç.

Për të realizuar matjet e kalciumit në urinën e 24 orëve, u përdor metoda kolorimetrike me o-krezolftaleinë, ndërsa për matjen e magnezit, po në urinën e 24 orëve, u përdor metoda me xylydyl blu.

3.1.1 Mbledhja e mostrave analitike

Realizimi i përcaktimit të vlerave normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve, u krye në urinat 24 orëshe, të 60 pacientëve të shëndoshë vullnetarë, me moshë nga 15 vjeç deri në 60 vjeç.

Realizimi i kësaj pjese të studimit u bë sipas protokollit të mëposhtëm:

- U zgjodhën pa dallim seksi 60 subjekte të shëndoshë, mosha e të cilëve varionte nga 15 vjeç në 60 vjeç;
- Subjektet e zgjedhur ishin klinikisht të shëndoshë, pa hipertension, nuk përdornin preparate diuretike, nuk merrnin preparate me kalcium dhe magnez;
- Çdo subjekt mblodhi urinën e 24 orëve, pa humbur asnjë porcion dhe çdo urine 24 orëshe të mbledhur, iu përcaktua volumi 24 orësh, pra diureza. Në matjet e diurezës u tregua kujdes i madh, pasi ndikon direkt në rezultatet e analizës (Winter, 1981);

3.1.2 Përcaktimi i kalciumit me metodën kolorimetrike me o-krezolftaleinë

a. Parimi i metodës

Kalciumi i pranishëm në materialin analitik, në mjedis alkalin, reagon me o-krezolftaleinë, duke dhënë një kompleks të ngjyrosur me ngjyrë të purpurt.

Ky kompleks ka një absorbim të dukshëm, në pjesën e verdhë të spektrit të dukshëm, me maksimum absorbimi në 578 nm (Anderson & Cockayne, 1993).

Intensiteti i ngjyrës së formuar ose madhësia e absorbancës, është në përpjesëtim të drejtë me përqëndrimin e kalciumit të pranishëm, në materialin alkaline të mjedisit analitik.

b. Përbërja analitike e kitit

Reagent R₁

Aminometilpropanol 350 mmol/l

Reagenti R₂

O- Cresolftaleinë Complexone 0.19 mmol/l
8- hidroksikinolinë 7.0 mmol/l

Tretësirë standarde kalciumi 10 mg/dl

Për të përgatitur reagentin e punës përzihen në volume të barabarta, reagenti R₁ me atë R₂

Reagenti i punës është i qëndrueshëm për 6 orë, në temperaturën e dhomës 18-25 °C.

c. Përgatitja e mostrës analitike

Nga urina e 24 orëve merret një volum urine dhe acidifikohet me 2 deri në 3 pika acid klorhidrik HCl 0.1 M dhe më pas hollohet me ujë destile në raportin 1: 5.

d. Metodika analitike

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	50 µl	-----	-----
Standard	-----	50 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	50 µl
Reagent analitik	2 ml	2 ml	2 ml

Tubat analitike përzihen mirë dhe lihen për inkubim për 5 min, në temperaturën e ambientit (temperaturë dhome 18-25 °C).

Absorbancat u matën në fotometrin e programueshëm BTS 310 Plus të firmës Biosystems.

Elementët kryesorë të programit të kalciumit në këtë fotometër janë:

- Kalciumi OCPC
- Metoda analitike End-Point me standard
- Njësia matëse mg/dl
- Leximi optik Monokromatik

- Zerimi i fotometrit kundrejt H₂O destile
- Gjatësia e valës 600 nm
- Koha e leximit 5 sekonda
- Temperatura e kyvetës 37°C
- Volumi i thithjes 900µl
- Drejtimi i reaksionit ngritës (slope pozitiv)
- Përqëndrimi i standardit 10 mg/dl

Kalciumi në urinën e 24 orëve, u llogarit me anë të formulës:

$$\text{Kalcium (mg/24 h)} = \frac{\text{Leximi i aparatit Ca mg/dl}}{100} * \text{Volumi i urinës 24 orëve i shprehur në ml}$$

3.1.3 Përcaktimi i magnezit me metodë kolorimetrike me xylidyl blu

a. Parimi i metodës

Magnezi i pranishëm në materialin analitik, në mjedis alkalin, hyn në reaksion me xylidyl blu, duke dhënë një kompleks të ngjyrosur me ngjyrë rozë në të purpurt. Ky kompleks i ngjyrosur ka një absorbancë të konsiderueshme, në pjesën e gjelbër të spektrit të dukshëm, me një maksimum absorbimi në gjatësinë e valës 505 nm (Elin, 1988).

Intensiteti i ngjyrës së formuar ose madhësia e absorbancës është në përpjesëtim të drejtë, me përqëndrimin e magnezit të pranishëm në materialin analitik.

b. Përbërja e kitit analitik

Reagent R₁

Tampon Tris pH 12	200 mmol/l
Xylidyl blu II	0.12 mmol/l
EGTA	0.06 mmol/l
Karbonat Kaliumi	69 mmol/l
Alkol etilik	2.1 mmol/l
Azid natriumi	< 0.1%

Ky reagent është i gatshëm për punë dhe nuk kërkon asnjë procedurë përgatitore paraprake.

Reagent R₂

Standard magnezi 2.5 mg/dl

c. Përgatitja e mostrës analitike

Mostra e urinës e marrë nga urina e 24 orëve, acidifikohet me 2-3 pika acid klorhidrik HCl të koncentruar, derisa pH i saj të arrijë vlerën 3 deri në 4. Më tej kjo mostër urine hollohet me ujë destile në raportin 1: 5.

d. Metoda analitike

Materiali i përdorur	Blank	Standard	Analizë
H ₂ O destile	10 µl	-----	-----
Standard	-----	10 µl	-----
Mostër analitike	-----	-----	10 µl
Reagent analitik	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml

Tubat analitikë përzihen mirë, mundësisht në Vortex dhe inkubohen 10 minuta në temperaturë ambienti ose 5 min në 37° C.

Absorbancat u matën në fotometrin e programueshëm BTS-310 Plus, në gjatësinë e valës 505 nm, në programin e magnezit.

Elementët kryesorë të programit të magnezit, në fotometrin e programueshëm BTS-310 Plus janë përshkruar më poshtë:

Magnezi	Xylidyl Blu
Metoda	End-Point me standard
Njësia	mg/dl
Mënyra e leximit	Monokromatike
Filtri i leximit	505 nm
Zerimi i fotometrit	kundrejt H ₂ O destile
Temperatura	37° C
Volumi i thithjes	900 µl
Koha e leximit	5 sekonda
Drejtimi i reaksionit	ngritës (positive slope)
Standardi	2.5 mg/dl

Rezultati i analizës, llogaritet me formulën e mëposhtme

$$\text{Magnezi (mg/24 h)} = \frac{\text{Leximi i aparatit Mg mg/dl}}{100} * \text{Volumi i urinës 24 orëve i shprehur në ml}$$

3.1.4 Rezultati i studimit për nivelet normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve

Mbas përfundimit të matjeve dhe llogaritjeve përkatëse, për përmbajtjen e kalciumit dhe të magneziumit në urinën e 24 orëve, rezultatet e fituara u përpunuan nga pikëpamja matematiko-statistikore.

U llogarit mesatarja matematike \bar{x} , shmangia standarde S D (σ) dhe u llogarit intervali i vlerave normale $x \pm 2 S D$, i përdorur gjerësisht në biokiminë mjekësore.

U përdor T-testi (Testi Student), për të gjykuar mbi ndryshimet midis intervaleve të vlerave normale në përdorim, literaturë dhe të gjetura nga studimi ynë (Rose, 1984).

Të dhënat e fituar jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 3.1. Përpunimi statistikor i rezultateve të matjeve të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve

Emërtimi i përcaktimit në urinën e 24 orëve	Mesatarja mg/24 h	Shmangia standarde mg/24 h	Intervali normal $X \pm 2SD$ mg/24 h
Vlerat normale të kalciumit urinar, gjetur në studim	220	40	140-300
Vlerat normale të kalciumit urinar, gjetur në përdorim	175	37	100-250
Vlerat normale të kalciumit urinar, cituar në literaturë	200	50	100-300
Vlerat normale të magnezit urinar, gjetur në studim	130	30	70- 190
Vlerat normale të magnezit urinar, gjetur në përdorim	100	25	50-150
Vlerat normale të magnezit urinar, cituar në literaturë	120	30	60-180

Të dhënat e tabelës 3.1, në një vështrim të parë tregojnë, që vlerat normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve të gjetura në studimin tonë, ndryshojnë nga ato në përdorim dhe nga ato, që citohen në literaturë (Anderson & Cockayne, 1993).

Për këtë arsye u përdor T-testi për të vërtetuar, nëse këto ndryshime janë sinjifikative apo janë ndryshime të rastit.

Të dhënat e fituara jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 3.2. Krahasimi statistikor (T-testi) i vlerave normale

Emërtimi i përcaktimit në urinën e 24 orëve	T-testi
Kalciumi në studim	$t_{\log} = 5.0$
Kalciumi në përdorim	$t_{\text{tab}} = 3.2$
Kalciumi në literaturë	$p < 0.001$
Magnezi në studim	$t_{\log} = 5.9$
Magnezi në përdorim	$t_{\text{tab}} = 3.2$
Magnezi në literaturë	$p < 0.001$

Të dhënat e tabelës vënë në dukje, se ndryshimi midis vlerave të intervaleve normale që përdoren aktualisht dhe atyre të gjetura në studimin tonë, është statistikiqisht i besueshëm (sinjifikativ).

Kjo gjë është në përputhje me rekomandimin e Federatës Botërore të Kimisë Klinike dhe laboratorëve mjekësorë (IFCC).

Sipas IFCC, çdo laborator në lidhje me kushtet e popullatës që mbulon dhe në lidhje me teknologjinë që zotëron, duhet të përcaktojë intervalet e tij të vlerave normale, për analizat që përcakton.

Ky studim na lejon të nxjerrim disa përfundime:

- Vlerat normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve, në popullatën e zonës së Elbasanit, janë më të larta, sesa intervalet e vlerave normale të kalciumit dhe magnezit urinar në përdorim aktual, nga laboratorët tanë. Ndryshimet midis intervaleve të vlerave normale janë statistikiqisht të besueshme (sinjifikative), gjë që vërtetohet nga aplikimi i T-testit;
- Rezultatet e përfituara, mund të shërbejnë për një interpretim më të mirë të analizave të mësipërme, në praktikën e përditshme mjekësore. Ato mund të shërbejnë si burim i rëndësishëm të dhënash, për studime të mëtejshme klinike në këtë fushë;
- Mendojmë se përmbajtja e shtuar e kalciumit dhe magnezit në mjedis, sidomos në ujin e pijshëm, ndikon në intervalin e vlerave normale të kalciumit dhe magnezit në urinën e 24 orëve;

3.2 Përcaktimi i vlerave normale të elektrolitëve në serumin e popullatës së qytetit të Tiranës.

3.2.1 Metoda analitike dhe aparati matës i përzgjedhur për të realizuar matjen e analizave.

Si metodë analitike, për të përcaktuar intervalin e vlerave normale të elektrolitëve në serumin e gjakut, u përzgjedh metoda me elektroda jono-selektive. Si aparat matës, u përdor elektrolitmetri SINO 005. Ky elektrolitmetër është i pajisur me elektroda jono-selektive për matjen e natriumit Na^+ , kaliumit K^+ , klorit Cl^- , kalciumit Ca^{2+} dhe pH-it.

Elektroda e pH-it është e nevojshme për të llogaritur përqëndrimin e kalciumit të jonizuar Ca^{2+} , në $\text{pH} = 7.40$, që është pH fiziologjik normal.

Aparati SINO 005 është i pajisur me elektrodë për matjen e pH-it në intervalin 6.8-7.8, në mikroprocesorin e aparatit, ekziston një algoritëm matematik, i cili lejon të llogaritet përqëndrimi i kalciumit të jonizuar Ca^{2+} , në $\text{pH} = 7.4$, që përfaqëson pH-in fiziologjik normal.

Ky algoritëm është i formës:

$$n\text{Ca} = \text{Ca}^{2+}(\text{pH}_x) * 10 \text{ Exp} [[0.24(7.40 - x)]]$$

Në këtë algoritëm:

X është pH i gjakut në momentin e matjes së përqëndrimit të joneve të kalciumit Ca^{2+} .

$\text{Ca}^{2+}(\text{pH}_x)$ –përqëndrimi i kalciumit të jonizuar në momentin e matjes, kur pH i gjakut është x (Komaba et al., 1998).

Në këtë elektrolitmetër, për të bërë të mundur matjen praktike me anë të ekuacionit të Nernst-it, zgjidhet një metodë krahasuese.

Thelbi i kësaj metode, ka të bëjë me përdorimin e tretësirave standarde me përqëndrim të njohur, të jonit që analizohet.

Matja bëhet në dy faza.

Në fazën e parë, analizatori SINO 005 mat potencialin elektrik, që lind në elektrodën jono-selektive, kur kjo e fundit bie në kontakt me tretësirën standarde me përqëndrim të njohur të jonit (elektrolitit), i cili kërkohet të analizohet në materialin biologjik.

Në fazën e dytë analizatori mat potencialin elektrik, që lind në elektrodë, kur kjo e fundit bie në kontakt me materialin biologjik, në të cilin ndodhet elektroliti, që kërkohet të analizohet.

Duke bërë veprimet matematike, në bazë të ekuacionit të Nernst-it, del përqëndrimi C_x , i jonit, që analizohet.

$$C_{(x)} = C_{(s)} * 10 * \frac{(E - E_0)}{S} \text{ ku:}$$

E – Potenciali elektrik, që lind në elektrodë, kur kjo bie në kontakt me jonin, që analizohet;

E_0 – Potenciali elektrik që lind në elektrodë, kur kjo bie në kontakt me tretësirën standarde;

S – Pjerrësia ($S = \tan \alpha$) e lakores së kalibrimit, e cila ndërtohet gjatë procedurës së kalibrimit;

$C_{(x)}$ – përqëndrimi i jonit që analizohet;

$C_{(s)}$ - përqëndrimi i njohur i jonit që analizohet, i pranishëm në tretësirën standarde;

3.2.2 Përzgjedhja e materialit biologjik, për të përcaktuar intervalin e vlerave normale të elektrolitëve.

Në studim u përzgjedhën 100 pacientë. Për të realizuar përzgjedhjen, u bazuam në këto kriterë:

- Pacientët të mos vuanin nga veshkat;
- Pacientët të mos vuanin nga sëmundje kardiovaskulare dhe të mos përdornin diuretike;
- Pacientët të kishin nivel normal të glukozës dhe lipideve në gjak;
- Pacientët të mos kishin çrregullime endokrine;

Gjaku u mor nga venat e krahut, në tuba me xhel, për ta përfutur serumin sa më shpejt. Tubat u centrifuguan për 10 min, në centrifugë me 5600 rrot/min. Serumi i përfutur, u veçua menjëherë pas centrifugimit nga masa eritrocitare, për të shmangur efektin “shift” të kaliumit nga eritrocitet. Kjo për arsye, se përqëndrimi i kaliumit brenda eritrociteve është mesatarisht 35 herë më i lartë, sesa përqëndrimi i kaliumit në serum. Për këtë shkak, nëse serumi nuk veçohet nga masa eritrocitare, kaliumi me difuzion pasiv del nga brendësia e eritrociteve duke rritur përqëndrimin e kaliumit në serum dhe duke dhënë kështu rezultate, fallco të larta.

Serumet e përfutura menjëherë pas veçimit nga masa eritrocitare, u matën në aparat SINO 005, gjithmonë mbas ndërtimit të lakores së kalibrimit me tretësira standarde (Kolpepaj & Buzo, 2007).

Sipas rekomandimit të IFCC, intervali i vlerave normale, përcaktohet si vlerë mesatare $\bar{x} \pm 2$ S.D (IFCC-WorldLab, 2011; IFCC.1986)

Kjo metodë bazohet në supozimin e shpërndarjes normale dhe e konsideron besimin propabilitar 95% ($P=0.05$), për llogaritjen e intervalit.

Skema llogaritëse kalon nëpërmjet hapave që vijojnë:

- Llogaritet vlera mesatare \bar{x} , $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$
- Llogaritet deviacioni standard S.D (σ): $S. D = \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$
- Llogaritet testi i normalitetit Anderson Darling (AD) (Bland & Altman, 1986).
- Llogaritet intervali i vlerave normale me anë të formulës $\bar{x} \pm 2$ S.D

Sipas teorisë së vlerave normale, të aprovuara nga IFCC, brenda intervalit të vlerave normale $\bar{x} \pm 2$ S.D, duhet të gjenden 95 % e vlerave analitike të analizave të matura në popullatën e shëndoshë (P= 0.05).

Në çdo seri matjesh, fillimisht u bë përcaktimi i lakores së kalibrimit me dy tretësira standarde. Pas përcaktimit të lakores së kalibrimit u matën menjëherë mostrat e serumeve të parapërgatitura.

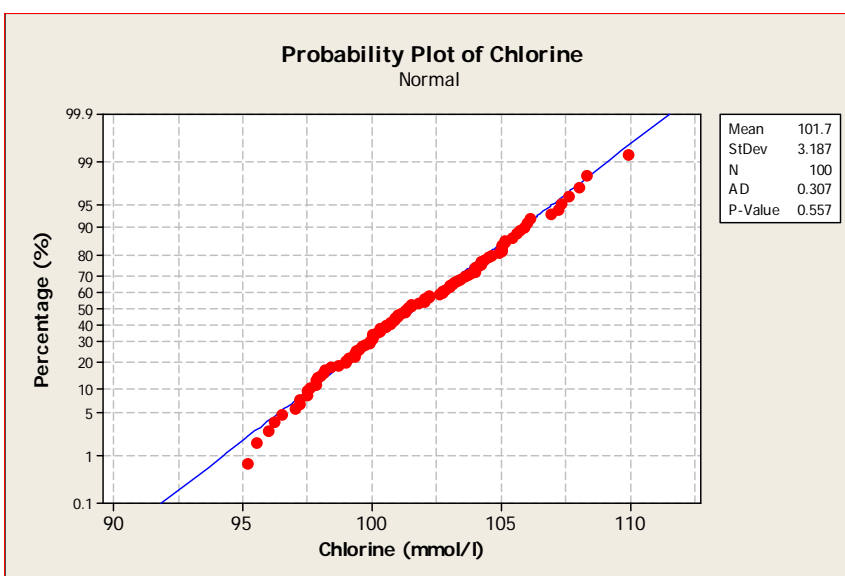
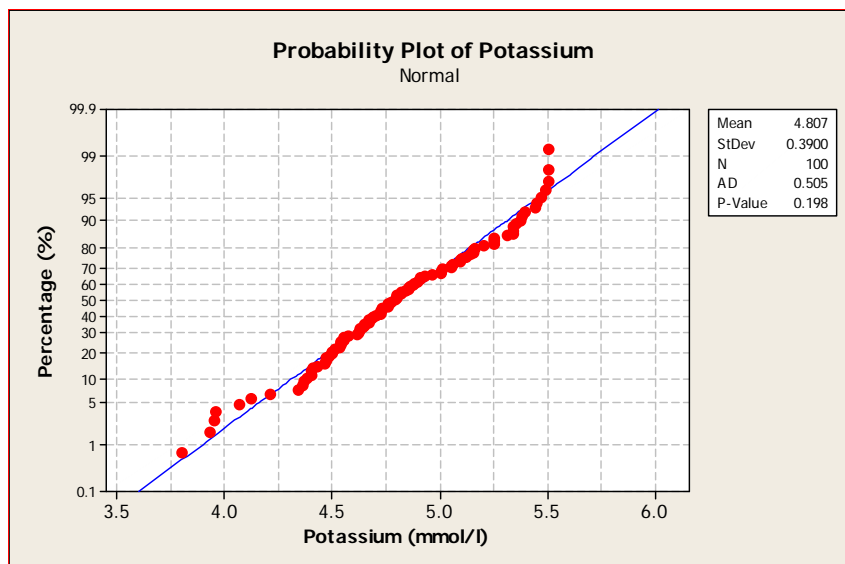
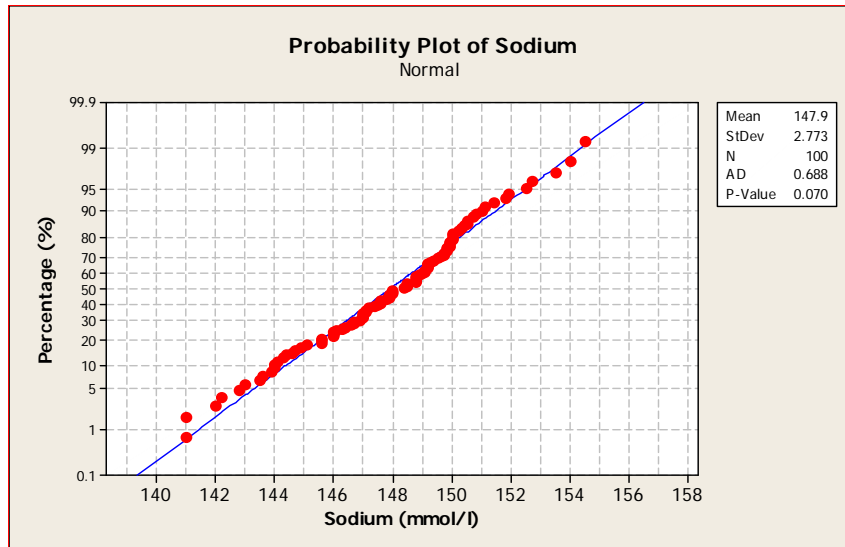
3.2.3. Rezultatet e studimit

Rezultatet jepen në tabelën 3.3 dhe grafikët jepen në figurën 3.1. Nga kjo tabelë, vërehet që kjo dukuri është në koherencë me rekomandimet e IFCC dhe vërteton tezën, që çdo laborator duhet të nxjerrë intervalet e tij të vlerave normale, pasi ato që rekomandohen në literaturë janë orientuese.

Nga të dhënat e tabelës 3.3 shihet qartë, që vlerat normale të elektrolitëve, të matura në kushtet e laboratorëve tanë dhe ato që takohen në literaturë janë mjaft të përafërta.

Tabela 3.3. Vlerat normale të elektrolitëve, natrium, kalium, klor dhe kalcium, matur me metodën jono-selektive me elektrolitmetrin SINO 005 dhe krahasimi me ato të literaturës.

Elektrolitë	Numri	Vlera mesatare (mmol/l)	SD (mmol/l)	Intervali i vlerave normale (mmol/l)
Na ⁺	100	148	2.8	142.4–153.6
Na ⁺ , literaturë		142	3	136–148
K ⁺	100	4.8	0.4	4.0–5.6
K ⁺ , literaturë		4.4	0.45	3.5–5.3
Cl ⁻	100	102	3.2	95.6–108.4
Cl ⁻ , literaturë		103	3.5	96–110
Ca ²⁺	100	1.2	0.18	0.84–1.56
Ca ²⁺ , literaturë		1.2	0.1	1–1.4



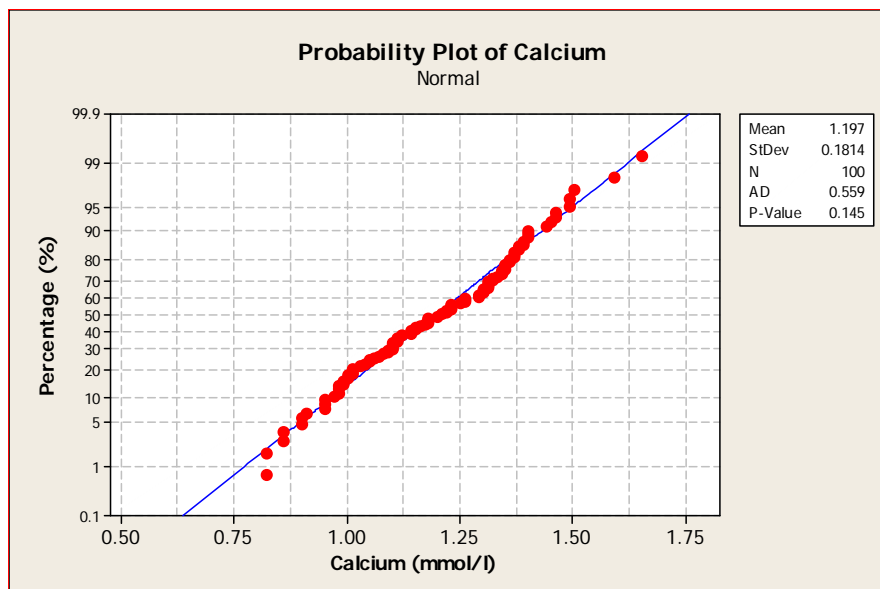


Figura 3.1: Propabiliteti i shpërndarjes së përmbajtjes së elementëve Na, K, Cl, Ca.

Nga grafikët merren rezultatet e mëposhtme:

Natriumi AD = 0.688, p= 0.07; Kaliumi AD = 0,505, p = 0.198; Klori AD = 0.307, p = 0.557; Kalciumi AD=0.559, p=0.145.

Të gjitha vlerat e p janë më të mëdha se 0.05 duke treguar, që nuk ka shmangie të rëndësishme nga normaliteti dhe që përafrimi për fitimin e një intervali normal është i vlefshëm.

Përcaktimi i vlerave normale në kushtet e laboratorëve tanë, është shumë i rëndësishëm, për të interpretuar sa më korrekt të dhënat analitike (Robert, 1998).

Për të studiuar mënyrën e shpërndarjes dhe lidhjen ndërmjet elektrolitëve në organizëm, u krye analiza e korrelimit Pearson midis elementëve, duke përdorur programin kompjuterik Minitab 16:

Tabela 3.4 Korrelimi ndërmjet elementëve

	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
K ⁺	0.175 0.081		
Cl ⁻	0.136 0.177	-0.053 0.601	
Ca ²⁺	0.154 0.126	-0.041 0.685	0.994 0.000

Siç shihet nga rezultatet e analizës së korrelimit Pearson, vetëm elementët Ca²⁺ dhe Cl⁻, paraqesin koeficient korrelimi mjaft të lartë (R²=0.994, P <0.001), çka tregon ligjësi ndryshimi të njëjtë të këtyre elementëve në organizëm.

Për elementët Ca^{2+} dhe Cl^- , me koeficient korrelimi të lartë, ndërtojmë varësinë e tyre sipas regresit linear, rezultatet e së cilës jepen më poshtë:

Analiza e regresionit : Cl^- përkundrejt Ca^{2+}

Ekuacioni i regresionit është: $\text{Cl}^- = 80.77 + 17.47 \text{ Ca}^{2+}$

S = 0.339236 R-Sq = 98.9% R-Sq(adj) = 98.9%

Tabela 3.5. Analiza e Variancës

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	994.56	994.563	8642.29	0.000
Error	98	11.28	0.115		
Total	99	1005.84			

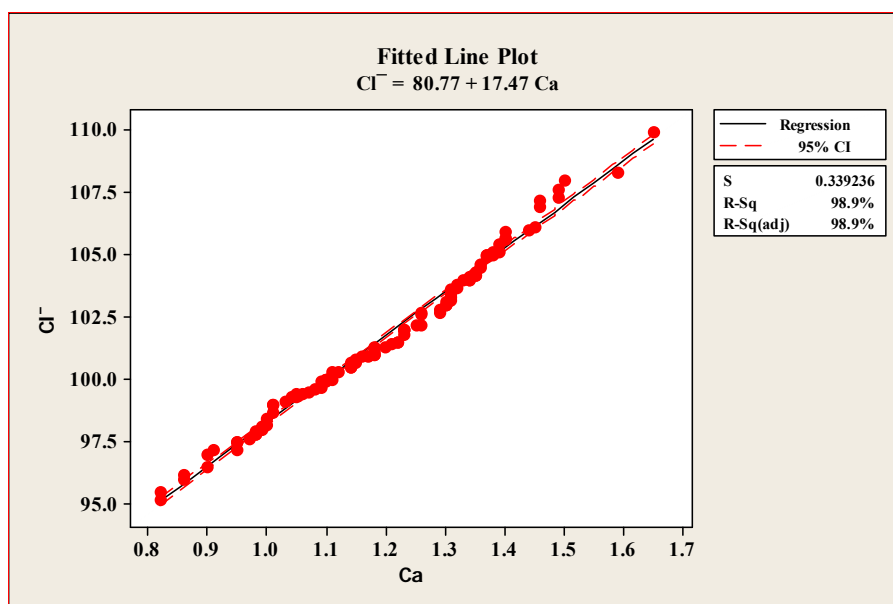


Figura 3.2. Grafiku i regresit linear të Cl^- përkundrejt Ca^{2+}

Siç shihet nga të dhënat e mësipërme, ekziston një varësi lineare mjaft e mirë midis elementëve kalcium dhe klor në organizëm, çka vërtetohet nga vlera e koeficientit të linearitetit ($R^2=0.989$) dhe shmangie standarde mjaft të ulët ($s=0.339$)

Hipoteza H_0 = kalciumi dhe klori nuk kanë varësi lineare, hidhet poshtë nga $F= 8642$, pra kalciumi dhe klori kanë varësi lineare.

Kjo jep mundësinë, që nëpërmjet ekuacionit të regresit linear, të llogaritet njëri prej elementëve, në kushtet kur analizohet vetëm njëri prej tyre. Për të vërtetuar këtë, po krahasojmë vlerat e llogaritura të Ca, kur kemi analizuar vetëm Cl.

Rezultatet e përpunimit statistikor të përfuara nëpërmjet aplikimit të t- test-it jepen në tabelën e mëposhtme:

Tabela 3.6. Rezultatet e t-test: two-sample assuming unequal variances

t-Test	Ca ²⁺ (mmol/l)	
	Llogaritur	Matur
Mean	1.2	1.2
Variance	0.036	0.026
Observations	100	100
df	198	
t Stat	0.1977	
P(T<=t) one-tail	0.4217	
t Critical one-tail	1.6526	
P(T<=t) two-tail	0.8435	
t Critical two-tail	1.9720	

Nga T-testi, shikojmë që $t_{\text{statistikore}} = 0.1977$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 1.972$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$

Pra nuk ka ndryshime domethënëse në vlerat mesatare të kalciumit të llogaritur dhe kalciumit të matur, pra klorin e masim me ISE, ndërsa kalciumin e llogarisim me anë të ekuacionit të mësipërm, duke pasur kështu edhe një përfitim ekonomik, pasi harxhojmë kit, për matjen vetëm të një elementi.

Tabela 3.7, jep rezultatet e t-test, për të përcaktuar ndryshimet në matjet e elektrolitëve të meshkujve dhe femrave.

Tabela 3.7. Rezultatet e t-test: two-sample assuming unequal variances

t-Test	Na ⁺ (mmol/l)		K ⁺ (mmol/l)		Cl ⁻ (mmol/l)		Ca ²⁺ (mmol/l)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Mean	148.8	146.9	4.8	4.8	102.1	101.2	1.2	1.2
Variance	7.284	6.236	0.143	0.166	11.841	8.037	0.036	0.026
Observations	54	46	54	46	54	46	54	46
df	97		93		98		98	
t Stat	3.7471		0.2436		1.3031		2.3896	
P(T<=t) one-tail	0.0002		0.4040		0.0978		0.0094	
t Critical one-tail	1.6607		1.6614		1.6606		1.6606	
P(T<=t) two-tail	0.0003		0.8081		0.1956		0.0188	
t Critical two-tail	1.9847		1.9858		1.9845		1.9845	

Matematikisht nga T-testi, shikojmë që për:

- Natriumin, $t_{\text{statistikore}} = 3.74$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 1.985$. Pra $t_{\text{statistikore}} > t_{\text{Critical two-tail}}$
- Kaliumin, $t_{\text{statistikore}} = 0,24$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 1.986$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$
- Klorin, $t_{\text{statistikore}} = 1.30$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 1.984$. Pra $t_{\text{statistikore}} < t_{\text{Critical two-tail}}$
- Kalciumin, $t_{\text{statistikore}} = 2.39$, ndërsa $t_{\text{Critical two-tail}} = 1.984$. Pra $t_{\text{statistikore}} > t_{\text{Critical two-tail}}$

Pra nga tabela duket qartë, që nuk ka ndryshime domethënëse në përmbajtjen e elementëve për të dyja gjinitë, për klorin dhe kaliumin, por ka një ndryshim domethënës në rastin e natriumit dhe kalciumit. Kjo gjë mund të lidhet me jetën shoqërore, me mënyrën e ndryshme të të ushqyerit si dhe me ndryshimet fiziologjike ndërmjet femrave dhe meshkujve.

PËRFUNDIME DHE REKOMANDIME

- Çdo laborator mjekësor, që zotëron një fotometër të programueshëm, mund të përcaktojë me mjaft siguri kaliumin, kalciumin, magnezin dhe klorin, në lëngjet biologjike me kite End-Point, të cilët janë të thjeshtë, relativisht të shpejtë, të saktë dhe praktikë.
- Çdo laborator mjekësor, në lidhje me teknologjinë që zotëron dhe popullatën që mbulon, duhet të përcaktojë intervalet e tij të vlerave normale.
- Matja e elektrolitëve, me aparatura të sistemit të mbyllur dhe aparatura të sistemit të hapur, përta i përket saktësisë është e njëvlershme. Sistemet e mbyllura janë shumë të shpejtë, por kanë kosto të lartë ekonomike. Ne rekomandojmë, që laboratorët e vegjël, për qëllime rutinë, të përdorin aparatet e sistemit të hapur, të cilët janë mjaft ekonomikë.
- Zbatimi korrekt i protokollit analitik është thelbësor, për rezultate analitike të sakta dhe të besueshme.

LITERATURA

- Anderson SC., Cockayne S. (1993): Clinical Chemistry. Concepts and Applications. Philadelphia.W.B.Saunders Company.
- Anker P., Wieland E., Ammand D., Dohner R. E., Asper R., Simon W. (1981): Neutral Carrier Based Ion-Selective Electrode for the Determination of Total Calcium in Blood Serum, *Anal. Chem*: 53:1970, 4.
- Bagrnski ES., Marie 58., Clark WL., Zak. B. (1973): Direct micro determination of serum calcium, *Clin. Chim. Acta*: 46-54.
- Baraj B., Shehu A.(2012): Trajtimi statistikor në Kiminë Analitike:105-113, 129-132
- Barnett RN., Skodon SB., Goldberg MH. (1973): Performance of kits used for clinical chemical analysis of calcium in serum, *Amer. J. Clin. Path.*, 59: 836-845.
- Bender GT. (1987): Principles of Chemical Instrumentation, Philadelphia, WB Saunders Company.
- Bland JM., Altman DG. (1986): Statistical methods for assessing agreements between two methods of clinical measurement, *Lancet*: 307-310.
- Bonardi R., Deambrogio V., Oliaro A. (1999): Interpretazione dei dati di Laboratorio, Torino.
- Brommer F., Coburn JW. (1981): Disorders of mineral metabolism. New York. Academic Press.
- Buckley BM., Smith SC., Beevers M., Beevers DG., McKiernan MJ. (1987): Lack of evidence of low ionized calcium levels in systemic hypertension, *Am J Cardiol*; 1; 59 (8):878-80.
- Burtis CA., Ashood ER. (1999): Tietz textbook of clinical chemistry, 3.ed. Saunders, p.322-3.
- Burtis, CA., Ashwood, ER. (2001). Tietz Fundamentals of clinical chemistry, 5° Edition, WB Saunders.
- Buzo S. (1993): Studimi eksperimental klinik i ekuilibrit acido-bazik, oksimetrisë dhe balancit elektrolitik, Dezertacion Universiteti i Tiranës, Fakulteti Mjekësisë, Katedra Farmakologji, Fiziologji, Biokimi. Tiranë.
- Cirillo M., Laurenzi M., Panarelli W., Stamler J. (1994): Urinary sodium to potassium ratio and urinary stone disease, The Gubbio Population Study Research Group, *Kidney Int* 46 (4): 1133-1139.

Dimeski G., Mollie P., Carter A. (2006): Effects of hyperlipidemia on plasma sodium, potassium and chloride measurements by an indirect ion-selective electrode measuring system. *Clinical Chemistry* 52, (1): 155-6.

DuBose TD Jr. (2008): Disorders of acid-base balance. In: Brenner BM, ed. *Brenner and Rector's The Kidney*. 8th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; Chap 14.

E. Barbolani., G. Piccardi., F. Pantani. (1981): *Analyt. Chim. Acta*: 132, 223.

Elin RJ. (1988): Magnesium metabolism in health and disease, *Dis Mon*. 34: 161-218.

Farrell EC. (1984): Magnesium in Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation. The CV Mosby Company. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), Chapter 55: 1065-70.

Fawcett WJ., Haxby EJ., Male DA. (1999): Magnesium: Physiology and Pharmacology, *British J of Anast*, 83 (2): 302-20.

Fogh-Andersen N., Christiansen TF., Komarmy L., Siggasrd- Andersen. (1978): Measurement of free calcium ion in capillary blood and serum. *Clin Chem* 24:1545-52.

Frant MS. (1994): History of the Early Commercialization of Ion-Selective Electrodes. *Analyst* 199, 2293-2301.

Fraser CG., Harris EK. (1989): Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 27:409-437.

Gindler M and King JD. (1972): Rapid colorimetric determination of calcium in biologic fluids with methylthymol blue. *Am J Clin Path*, 58: 376-382.

Goxharaj A., Liçaj S., Dhana B. (2012): Praktikum i biokimisë, hematologjisë dhe mikrobiologjisë mjekësore, Maluka, Tiranë: 3-39, 68-82.

Greenway DC., Hindmarsh JT., Wang J., Khodadeen JA., Hebert PC. (1996): Reference interval for whole blood ionized magnesium in a healthy population and the stability of ionized magnesium under varied laboratory conditions. *Clinical Biochemistry*, 29(6):515-520.

Henry JB. (1991): *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 18th Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.

Henry RJ., Cannon DC., Winkelman JW., Eds, (1974): Harper and Row, New York, NY, 646-650.

IFCC.(1986): Methodology and Clinical Application of Ion Selective Electrodes, Recommendations on the Expression of Results of Ion Selective Electrode Measurement of Sodium and Potassium Ion Activities in Undiluted Serum, Plasma or Whole Blood in Clinical Practice. Workshop Graz, 8, 137-50.

IFCC. (2011): WorldLab, EuroMedLab, Berlin.

Ising H., Bertschat F., Gunther T., Jeremias E., Jeremias A. (1995) : Measurement of free magnesium in blood, serum and plasma with an ion-sensitive electrode. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 33:365-371.

Kaplan L., Pesce AJ. (1991): *Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation*. 3.ed: 549-50.

Kaplan A. (1995): *Clinical chemistry interpretation and techniques*. 3. ed. Williams and Wilkins: 353

Koch DD. (1985): Electrolyte technology. Current and future. *J. Med Technol*, 2:40.

Koch DD., Peters T. (1999): Selection and evaluation of methods. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed, CA. BURTIS and ER. ASHWOOD (Eds.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, : 320-335.

Kolpepaj R., Buzo S. (2007): *Biokimia Klinike*. Tiranë, :76- 106.

Komaba S., Arakawa J., Seyama M., Osaka T., Satoh I., Nakamura S. (1998): Flow injection analysis of potassium using an all-solid-state potassium-selective electrode as a detector. *Talanta* 46, 1293–1297.

Kruse K., Kracht U., Kruse U. (1984): Reference values for urinary calcium excretion and screening for hypercalciuria in children and adolescents. *Eur J Pediatr* : 143: 25-31.

Ladenson JH., Bowers GN Jr. (1973): Free calcium in serum. Determination with ion-specific electrodes and factors affecting results. *Clin Chem*, 19:565-74.

Lambrecht FY., Kavukçu S., Kasap B., Soylu A., Yucesoy M., Turkmen M., Esen N. (2007): The role of calcium utilization of intestinal flora in urinary calcium excretion:148-150.

Leskoviku S., Liti M., Buzo S., Shteto K. (1982): *Metodat e hulumtimit në biokiminë klinike*, Tiranë, 5-105.

Lorentz K. (1982): Improved determination of serum calcium with 2-cresolphthalein complexone. *Clin. Chim. Acta*, 126(3): 327-34.

Marshall WJ. (1998): *Illustrated Text book of Clinical Chemistry*. Philadelphia., JB Lippincott.

Mazzaferri EL. (1980): *Endocrinology: A Review of Clinical Endocrinology*. Medical Examination Publishing Company.

Milart H., Durlach V., Durlach J. (1995): Red Blood Cell Magnesium Concentration: Analytical Problems and Significances. *The Magnesium Web Site. Magnesium Research (Review Paper)*. : 8(1): 65-76.

Osmond MF. (1987): *Soc. Chim.* 47:745.

Osorio AV., Alon US. (1997): The relationship between urinary calcium, sodium, and potassium excretion and the role of potassium in treating idiopathic hypercalciuria. *Pediatrics*, 100: 675-681.

Pesce AJ., Kaplan LA., eds. (1987): *Methods in Clinical Chemistry*, St. Louis, MO: CV Mosby Co.

Pesce AJ., Kaplan LA., editors. (1996): *Methods in Clinical Chemistry*, C.V. Mosby Company.

Robert B. McCall, (1998): University of Pittsburgh, *Fundamental Statistics for Behavioral Sciences*, 7th Edition.

Robertson WC, Marshall RW. (1981): Ionized calcium in body fluids. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 15:85-125.

Rose BD. (1984): *Clinical Physiology of Acid Base and Electrolyte Disorders*, 2nd edition, Mc Graw Hill, New York.

Schmidt Gayk H. (2006): Measurement of calcium, phosphate and magnesium - In: *Dynamics of bone and cartilage metabolism*. Academic Press, p. 487-502.

Siggaard Anderson O. (1986): *Electrochemistry in: Tietz NW, eds. Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia, WB Saunders Co.

Tielz NW. (1976): *Fundamentals of Clinical Chemistry*, Saunders Co. Philadelphia. Sec. Edit. 876-880.

Zilva JF., Pannall PR. (1979): Calcium, Phosphate and Magnesium metabolism in *Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment*. Lloyd-Luke 1979; Chap X1:253-4.

Walmsley RN., Watkinson LR., Cain HJ. (1999): *Cases in Chemical Pathology A Diagnostic Approach*. 4th ed. Singapore. World Scientific.p. 110-6.

Wang J. (1988): *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, VCH Publishers, New York.

Winter SD. (1981): Measurements of urine electrolytes : Clinical significance and methods. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*.

Wu AHB. (2006): *Tietz clinical guide to laboratory tests*. 4th edition. W.B. Saunders Company, St. Louis: p. 880.

PËRMBLEDHJE

Në këtë punim është bërë një studim eksperimental i metodave fotometrike End-Point dhe metodave me elektroda jono-selektive, për përcaktimin e elektrolitëve në lëngjet biologjike, me qëllim vendosjen e protokolleve të sakta, për matjen e tyre, në kushtet e laboratorëve të vendit tonë.

Kaliumi është matur me metodë turbidimetrike me natrium tetrafenilborat dhe elektroda jono selektive. Kalciumi është matur me metodat End-Point me kromogjenët o-kresolftaleinë dhe metiltimolblu. Klori është matur me metodën End-Point me tiocianat mërkuri dhe metodën me elektroda jono-selektive. Magnezi është matur me metodat End-Point me reagentin xylidyl blu dhe reagentin calmagit. Natriumi është matur me elektroda jono-selektive.

Si material biologjik ka shërbyer serumi i gjakut dhe urina e 24 orëve. Për çdo metodë është studiuar saktësia brenda serisë, saktësia jashtë serisë, ndjeshmëria dhe kufiri i linearitetit.

U studiua gjithashtu dhe korrelacioni midis elektrolitmetrave, sistem i hapur dhe sistem i mbyllur.

U përcaktuan intervalet e vlerave normale në kushtet e laboratorëve tanë, si dhe korrelacionet midis metodave.

Fjalë kyçe: End-Point, ISE, OCPC, MTB, tetrafenilborat, xylidyl blu, calmagit, tiocianat mërkuri, serum, urinë e 24 orëve, interval të vlerave normale.

ABSTRACT

This thesis is about an experimental study of the End-Point photometric methods and the ion-selective electrode ones to determine electrolytes in biological fluids, in order to establish the correct protocols for their measurement in laboratory conditions of our country.

Potassium has been measured by the turbidimetric method with sodium tetraphenylborate and with ion-selective electrode method. Calcium has been measured by the End-Point methods with o-cresolphthalein chromogenic and methylthymol blue chromogenic. Chlorine has been measured by the End-Point method with mercury (II) thiocyanate and by the ion-selective electrode method. Magnesium has been measured by the End-Point method with calmagite and xylidyl blue reagents. Sodium has been measured with ion-selective electrode method.

The biological material was composed of blood serum and 24 hours urine. For each method has been studied: the accuracy in the series, the accuracy out of the series, sensitivity and linearity limit. It has also been studied the correlation between electrolyte meters, open systems and closed ones.

There were defined the normal values intervals in our laboratory conditions, as well as correlations between methods.

Keywords : End-Point, ISE, OCPC, MTB, tetraphenylborate, xylidyl blue, calmagite, mercury(II) thiocyanate, serum, 24 hours urine, range of normal value.