

## Определение креатинина

Принцип метода определения креатинина в плазме (сыворотке) крови и моче основан на реакции образования соединения с пикратом натрия и изменения окраски, интенсивность которой зависит от концентрации креатинина.

### Необходимая аппаратура:

- спектрофотометр или фотоэлектроколориметр;
- водяная баня;
- центрифуга.

### Необходимые реактивы:

- **10,0% раствор едкого натрия** (к 10,0 г NaOH добавить 90,0 мл дистиллированной воды);
- **насыщенный раствор пикриновой кислоты** (14,0 г пикриновой кислоты растворить в 1 л дистиллированной воды при нагревании);
- **10,0 ммоль/л основной стандартный раствор** (113,0 мг креатинина растворить в 100,0 мл на дистиллированной воде);
- рабочие стандартные растворы, с концентрациями 1000,0, 500,0, 250,0, 125,0 и 62,5 мкмоль/л готовят из основного раствора, разводя его в 10, 20, 40, 80 и 160 раз, соответственно.

### Ход определения

**В крови** К 0,5 мл плазмы крови добавить 3,0 мл раствора пикриновой кислоты и на 2 минуты, прикрыв пробирку фольгой, поместить в кипящую водяную баню. Затем исследуемую пробу центрифугировать 10 минут при 1500 оборотах (*можно профильтровать*) и к 2,0 мл супернатанта или фильтрата добавить 0,1 мл раствора едкого натрия (*если при этом появиться муть, что связано с выпадением фосфора, то необходимо заново центрифугировать*). Через 10 минут определить оптическую плотность при длине волны 525 нм.

**В моче** К 1,0 мл разведенной мочи (*в 10 раз при водном диурезе и в 20 раз при спонтанном*) добавить 3,0 мл раствора пикриновой кислоты и 0,2 мл едкого натра с последующей, через 10 минут, спектрофотометрией при длине волны 525 нм.

П	Реактивы и действия	Контроль (мл)	Стандарт (мл)	Проба (мл)
Л	Дистиллированная вода	0,5	-	-
	Стандартный раствор	-	0,5	-
А	Исследуемая проба	-	0,5	0,5
З	Пикриновая кислота	3,0	3,0	3,0
М А		1. Поместить на 2 минуты в кипящую водяную баню, 2. Центрифугировать 10 минут 3. Отобрать 2,0 мл и добавить NaOH		
	Едкий натрий	0,1	0,1	0,1
Через 10 минут определить оптическую плотность при 525 нм				
М О	Дистиллированная вода	1,0	-	-
	Стандартный раствор	-	1,0	-
Ч	Исследуемая проба	-	-	1,0
А	Пикриновая кислота	3,0	3,0	3,0
	Едкий натрий	0,2	0,2	0,2
Через 10 минут определить оптическую плотность при 525 нм				

**Расчёт** Концентрацию креатинина рассчитывают по результату, полученному при делении показаний оптической плотности исследуемых проб на показания стандартной пробы и умножая полученный результат на концентрацию этого раствора, или же по показаниям ранее построенной калибровочной кривой с использованием стандартных растворов с концентрациями 1000.0, 500.0, 250.0, 125.0 и 62,5 мкмоль/л. в мкмоль/л

*При работе на фотоэлектроколориметре кривая концентрации креатинина до 370 мкмоль/л имеет линейную зависимость, а далее она становится более пологой.*

*Рябов, С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко Б.Б. Диагностика болезней почек / Л. Медицина. – 1979. – 255с. (-с.70-75)*