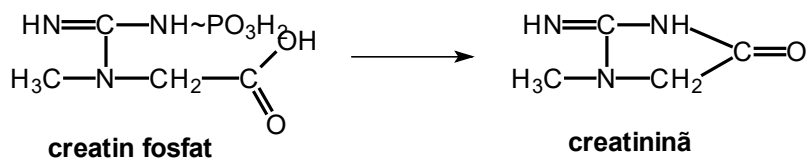


## DETERMINAREA CANTITATIVĂ A CREATININEI

Creatinina este un alt produs final al metabolismului aminoacizilor, provenind din creatină, care se sintetizează din: glicocol, arginină și metionină.

Creatina (acidul metilguanidinacetic) se găsește în cantitate însemnată în mușchi, unde servește drept precursor al sintezei creatinfosfatului, compus macroergic cu rol deosebit în fenomenele de contracție musculară.

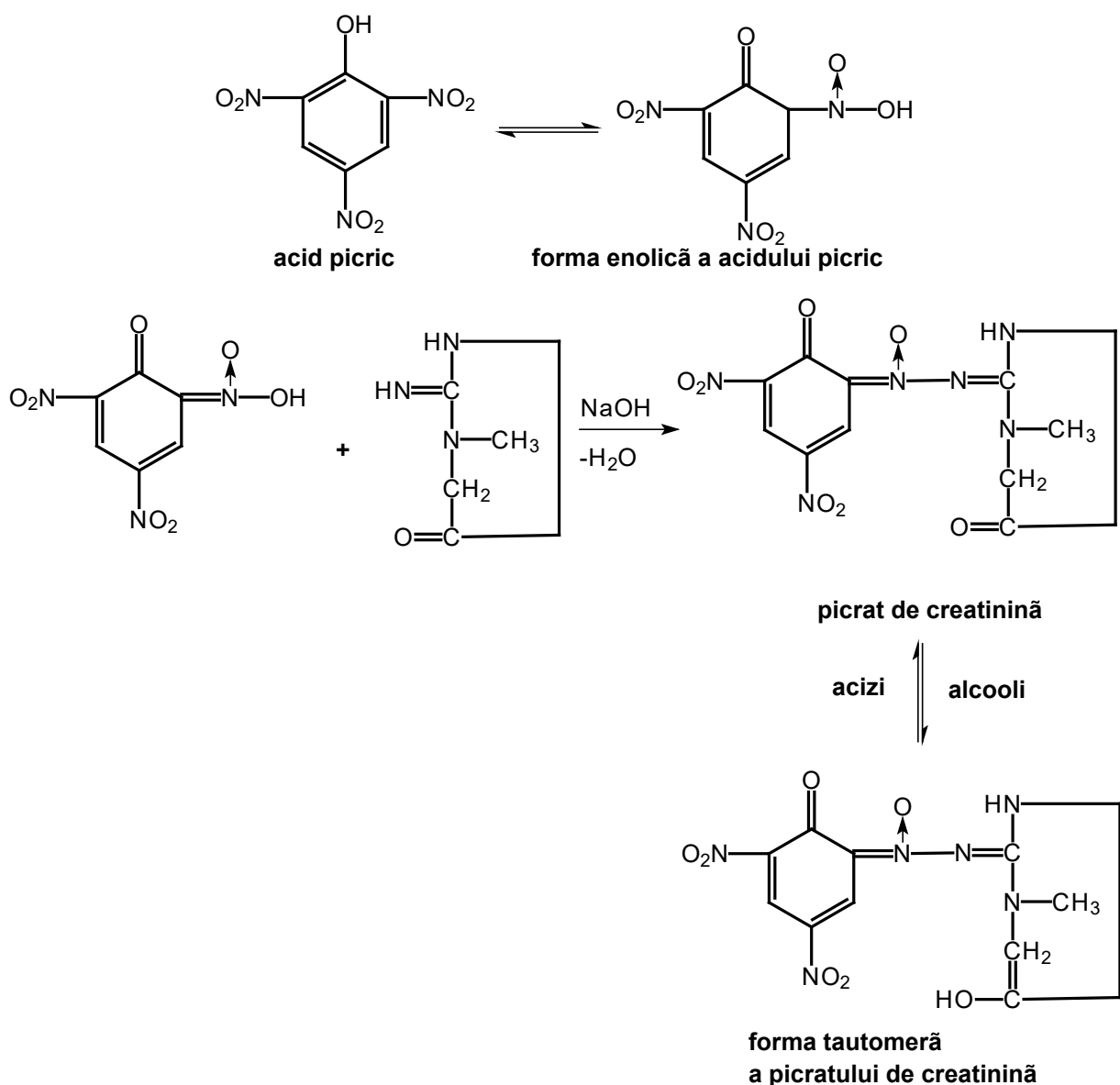
Creatinfosfatul pierzând gruparea fosfat împreună cu energia înglobată în ea, se transformă în creatinină.



Creatinina astfel formată se elimină din organismul animal prin urină.

Principiul metodei:

Creatinina reacționează cu forma enolică a acidului picric dând picratul de creatinină care în mediu alcalin se transformă în forma sa tautomeră de culoare roșie:



Intensitatea colorației produsului format este proporțională cu concentrația creatininei în proba de cercetat.

### Reactivi:

1. Soluție saturată de acid picric 1,2%. Se dizolvă la încălzire pe baia de apă 1,2 g acid picric în 100 ml apă distilată. Se lasă în repaus timp de 24 ore pentru ca apoi să se filtreze.

2. Soluție de NaOH 10%.
3. Soluție de HCl 0,1N
4. Soluție stoc de creatinină 113 mg% în soluție de acid clorhidric 0,1N
5. Soluție standard de creatinină 1,13 mg%. Se diluează 1 ml soluție stoc de creatinină la 100 ml cu acid clorhidric 0,1N.

**Mod de lucru:**

**a) În ser sanguin:**

Într-o eprubetă de centrifugă se amestecă 1 ml ser sanguin cu 3 ml soluție de acid picric saturată. După un repaus de 5 minute se fierbe pe baie de apă 15 - 20 secunde apoi se centrifughează la 3000 rot/min timp de 15 minute.

Se iau din supernatant 2 ml la care se adaugă 0,2 ml NaOH 10% și se agită cu atenție. Uneori la adăugarea de NaOH se poate să apară o ușară opalescență, dacă este așa atunci este necesară recentrifugarea la 3000 rot/min timp de 15 minute.

Pentru standard și control se va proceda după cum urmează.

Standard: 0,1 ml soluție standard de creatinină, 1,5 ml soluție saturată de acid picric, 0,2 ml soluție de NaOH 10% și 0,4 ml apă distilată.

Control: 1,5 ml soluție saturată de acid picric, 0,2 ml soluție de NaOH 10% și 0,5 ml apă distilată.

După 10 minute de la adăugarea soluției de acid picric se vor citi extincțiile standardului și probei la  $\lambda=520$  nm (filtru verde) față de proba de control.

Calculul rezultatelor:

Se face cu formula:

$$\text{mg creatinină} / 100 \text{ ml ser} = \frac{E_{\text{probă}}}{E_{\text{standard}}} \times 1,15$$

unde  $E_{\text{probă}}$  = extincția probei cu ser;  
 $E_{\text{standard}}$  = extincția standardului.

**b) În urină:**

Se colectează urina din 24 de ore amestecând-o cu măsurând volumul. Se ia din această cantitate 0,25 ml și se diluează la 25 ml cu apă distilată.

Se pipetează 1 ml urină diluată într-o eprubetă apoi se adaugă 1,5 ml soluție saturată de acid picric și 0,2 ml soluție de hidroxid de sodiu 10%. Se agită, se lasă în repaus 10 minute apoi se completează la 5 ml cu apă distilată (se adaugă 2,3 ml apă distilată).

Standard: la fel la probă doar că în loc de urina diluată se va adăuga 1 ml de soluție standard de creatinină.

Control: 3,3 ml apă distilată cu 1,5 ml soluție de acid picric saturată și cu 0,2 ml NaOH 10%.

Citirile se vor efectua la  $\lambda=520$  nm (filtru verde) față de proba de control.

Calculul rezultatelor:

Se va folosi formula:

$$\text{g creatinină} / 24 \text{ ore} = \frac{E_{\text{probă}} \cdot 0,0113 \cdot 25 \cdot V}{E_{\text{standard}} \cdot 0,25 \cdot 1000}$$

unde  $E_{\text{probă}}$  - extincția probei de cercetat;  
 $E_{\text{standard}}$  - extincția standardului;  
 V - volumul urinei din 24 ore.

**Observații:**

1. Măsurarea extincțiilor probelor trebuie făcută în primele 20 minute de la adăugarea soluției de NaOH
2. Drept conservant pentru urină se va folosi timolul sau toluenul care nu afectează determinarea creatininei

**Valori normale:**

În ser: 0,4 - 1,3 mg %.

Urină: 0,5 - 2 g /24ore

**Variații fiziopatologice:**

Consumul excesiv de alimente bogate în proteine și acizi aminici, efortul muscular susținut, insuficiența renală, distrofia musculară progresivă etc. duc la creșterea cantității de creatinină în sânge și urină.