**Ćwiczenie 3**

**Cel:** Oznaczenie stężenia białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy krwi metodą jakościową

**Odczynniki:** Zestaw diagnostyczny BioMaxima

**Materiał:** Surowica krwi

**Zasada metody:** Test aglutynacyjny. Do surowicy będącej źródłem CRP dodaje się odczynnik lateksowy z przeciwciałami anty-CRP. W wyniku oddziaływania CRP z przeciwciałami, powstają słaborozpuszczalne kompleksy (aglutynacja). Ich precypitacja z roztworu jest obserwowana jako pojawienie się „kaszki”, czy też „ziarenek”.

Brak zauważalnej aglutynacji oznacza, że w próbie nie ma CRP lub że stężenie CRP jest poniżej 6 mg/L (próg czułości testu). Zauważalna aglutynacja oznacza, że stężenie CRP w próbie badanej przekracza 6 mg/L – nie daje jednak informacji o konkretnym stężeniu białka. Dlatego metoda określana jest jako jakościowa.

Test można wykorzystać do półilościowego (orientacyjnego) oznaczenia stężenia CRP. Wymaga to wykonania szeregu rozcieńczeń surowicy (x2, x4, x8, etc.) i powtórzenia testu dla każdego z rozcieńczeń. Ostatnie rozcieńczenie surowicy dające odczyn dodatni przemnaża się przez próg czułości testu i otrzymuje orientacyjne stężenie CRP w surowicy.

**Wykonanie:**

**1.** Na kolejnych polach płytki reakcyjnej (trzy czarne pola) umieścić po 30 µl: kontroli negatywnej (brak CRP), kontroli dodatniej (CRP w stężeniu >6 mg/L), 30 µl badanej surowicy.

**2.** Na każde z pól, z zachowaniem odległości od już naniesionych roztworów, nanieść kroplomierzem po 1 kropli odczynnika lateksowego z przeciwciałami.

Kontrola
negatywna

Kontrola
pozytywna

Badana
Surowica

Odczynnik lateksowy



**3.** Wymieszać obie krople znajdujące się na polu reakcyjnym patyczkiem, starając się rozprowadzić zawartość na prawie całe pole. Wykonać czynność na każdym z pól reakcyjnych, zmieniając patyczek lub jego końcówkę.

**4.** Obserwować pojawienie się aglutynacji **w czasie do 3 minut od zmieszania kropli**. W czasie obserwacji delikatnie poruszać płytką, wykonując ruchy okrężne. Aglutynacja po 3 minutach nie powinna być brana pod uwagę (wynik fałszywie dodatni).

|  |  |
| --- | --- |
| **Wynik testu:**  |  **Wzorzec:** wynik dodatni wynik ujemnyZnalezione obrazy dla zapytania agglutination test |