

**ANEXO II**  
**TESTE DO ANTÍGENO ACIDIFICADO TAMPONADO (AAT)**  
**MATERIAL NECESSÁRIO:**

antígeno para o AAT;  
pipeta de Bang ou Pipetador de 30 µL ou de volume ajustável;  
ponteiras;  
placas com quadrados de 15 mm (quinze milímetros) delimitados;  
misturadores de plástico, vidro ou metal;  
caixa com luz indireta para leitura;  
soro controle positivo;  
soro controle negativo;  
agitador de placas (opcional); e  
timer ou relógio despertador de minuto.

**PRECAUÇÕES NA EXECUÇÃO DO TESTE:**

1. A suspensão estoque do antígeno deve permanecer sempre entre 4 e 8°C (quatro e oito graus Celsius), quando não estiver em uso.
2. Em caso de utilização do antígeno para a realização de pequeno número de testes, dividir o antígeno em alíquotas e retirar da geladeira apenas a quantidade a ser utilizada a cada dia para evitar perda de sensibilidade devido ao resfriamento-aquecimento constantes.
3. A temperatura de execução desejável do teste deve ser em torno de 22°C + 4°C, devendo evitar-se temperaturas muito abaixo ou acima deste valor.
4. As placas, misturadores e pipetas devem ser limpos com água corrente logo após o uso. Imergí-los em uma solução de detergente neutro por duas horas ou, de preferência, durante a noite. Em seguida lavá-los em água corrente e na seqüência em água destilada.  
Secar em estufa ou à temperatura ambiente.
5. Soros hemolisados devem ser desprezados por poderem apresentar resultados falsos-positivos.
6. Em todas as provas devem ser realizados em paralelo testes dos soros controle positivo e negativo.

**TÉCNICA:**

1. Equilibrar os soros e o antígeno à temperatura de 22°C + 4°C, por pelo menos 30 (trinta) minutos. Caso os soros estejam congelados este período de equilíbrio à temperatura ambiente deve ser maior. Homogeneizar os soros antes de realizar a prova;
2. Preencher os protocolos de prova identificando a localização de cada soro;
3. Ao utilizar o micropipetador de 30 µL ou a pipeta de Bang dotada de uma pêra de borracha, ou outro dispositivo de pipetagem que evite o uso da boca, dispensar 30 µL (ou da marca de 0,04 até 0,01 na pipeta de Bang) de soro por área da placa; depositar essa quantidade sobre a placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45° (quarenta e cinco graus);
4. Agitar suavemente o antígeno e colocar 30 µL ao lado do soro, sem ser nele misturado;
5. Misturar, por meio de misturador simples ou múltiplo e com movimentos circulares, o soro e o antígeno de modo a obter um círculo de aproximadamente 2 cm (dois centímetros);
6. Agitar a placa com movimentos oscilatórios, numa freqüência de aproximadamente 30 (trinta) movimentos por minuto, de modo a permitir que a

mistura soroantígeno flua lentamente dentro de cada círculo. A placa deve ser agitada continuamente por 4 min (quatro minutos);

7. Colocar a placa na caixa de leitura com luz indireta e proceder à leitura;
8. Anotar os resultados; e
9. Desconsiderar as reações de aglutinação que vierem a ocorrer após os 4 (quatro) minutos.

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:**

Presença de grumos - REAGENTE;

Ausência de grumos - NÃO-REAGENTE.