

ANEXO IV TESTE DO ANEL EM LEITE (TAL)

MATERIAL:

antígeno para o TAL;
amostras de leite a testar;
tubos de 10 x 75 mm ou 10 x 100 mm;
grade para tubos;
pipetas de 1 mL;
micropipetador para 30 µL; e
estufa ou banho-maria a 37°C (trinta e sete graus Celsius) .

PRECAUÇÕES NA EXECUÇÃO DO TESTE:

1. As amostras de leite devem ser mantidas entre +2°C e +8°C por pelo menos 24 (vinte e quatro) horas antes da realização do TAL.
2. A agitação excessiva da amostra de leite quebra os glóbulos de gordura interferindo na formação da camada de creme na superfície do leite.
3. Aquecimento do leite acima de 45°C (quarenta e cinco graus Celsius) diminui a quantidade de anticorpos anti-Brucella sp presentes na amostra.
4. Congelamento ou pasteurização da amostra podem ocasionar resultados falsos-negativos, portanto estas amostras não devem ser utilizadas no TAL.
5. Leite ácido, leite recentemente coletado, leite contendo colostro, leite de vacas no período de secagem e leite de vacas com mamite podem apresentar resultados falsos-positivos.
6. O tamanho do rebanho pode influenciar no resultado do teste quando o leite é coletado de latões. Para isto deve-se aumentar a quantidade de leite a ser utilizada no teste em função do tamanho do rebanho, conforme tabela abaixo:

Nº de animais	Volume de leite (em mL)
Até 150	1
151 a 450	2
451 a 700	3
Acima de 700	Dividir em lotes menores

7. Em todas as provas devem ser realizados testes em paralelo de amostras de leite controle positivo e negativo.

TÉCNICA:

1. Deixar as amostras de leite e o antígeno à temperatura de 22°C (vinte e dois graus Celsius) + 4°C (quatro graus Celsius) por, no mínimo, 60 (sessenta) minutos;
 2. Misturar bem as amostras de leite;
 3. Colocar 1 mL de leite em tubos 10 x 100 mm. A coluna de leite deve ter, no mínimo, 2 (dois) cm;
- Obs.: Em função do tamanho do rebanho, a quantidade de leite a ser utilizada no teste, (empregando-se a mesma quantidade de antígeno, 30 µL), deve ser aumentada para 2 (dois) ou 3 (três) mL, conforme as recomendações do item 6 das Precauções na Execução do Teste.
4. Adicionar ao leite 30 µL de antígeno;
 5. Tampar o tubo e misturar por inversão várias vezes;
 6. Deixar em repouso por 1 (um) minuto e verificar se a mistura está homogênea. Não deve sobrar antígeno nas paredes do tubo;
 7. Incubar por 1 (uma) hora a 37°C (trinta e sete graus Celsius);
 8. Proceder à leitura; e

9. Anotar os resultados.

Interpretação dos Resultados:

Anel de creme azul e coluna de leite branca ou azulada: REAGENTE; e
Anel de creme branco e coluna de leite azul: NÃO-REAGENTE