



Neogen do Brasil  
Rua Alberto Guizo 760, Distrito Industrial João Narezzi  
Indaiatuba-SP, Brasil CEP: 13.374-402  
Telefone: 19.3935-3727 | E-mail: [info@neogendobrasil.com.br](mailto:info@neogendobrasil.com.br) | Web: [www.neogen.com/Toxicology](http://www.neogen.com/Toxicology)

## MAZINDOL/METABÓLITOS DO MAZINDOL

INSTRUÇÕES DO KIT ELISA PARA OS PRODUTOS Nº 102519, 102516 E 102513

**SOMENTE PARA O USO FORENSE**

**USO PREVISTO:** para a determinação de quantidades vestigiais de Mazindol e/ou outros metabólitos em urina, sangue e fluido oral humano.

### DESCRIÇÃO

O kit de teste ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) para Mazindol/Metabólitos do Mazindol da Neogen Corporation é um kit de único passo, qualitativo, desenvolvido para o uso como um dispositivo de triagem na detecção de drogas e/ou seus metabólitos. O kit foi desenvolvido para fins de triagem e destina-se somente ao uso forense. Recomenda-se que amostras presuntivas positivas sejam confirmadas por um método quantitativo, tal como cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS).

### PRINCÍPIOS DO TESTE

O kit do teste da Neogen Corporation opera com base na competição entre a droga ou o seu metabólito na amostra e o conjugado da droga-enzima por um número limitado de sítios de ligação dos anticorpos. Primeiramente a amostra ou o controle é adicionado ao micropoço. Em seguida, o conjugado droga-enzima diluído é adicionado e a mistura é incubada à temperatura ambiente. Durante a incubação, a droga na amostra ou o conjugado da droga-enzima se liga ao anticorpo imobilizado no micropoço. Após a incubação, os micropoços são lavados 3 vezes para remover qualquer amostra ou conjugado droga-enzima que não tenha se ligado ao anticorpo. A presença do conjugado droga-enzima é reconhecida pela adição do Substrato K-Blue® (TMB). Após uma incubação do substrato de 30 minutos, a reação é interrompida com a adição da solução de parada Red Stop. O teste pode ser lido visualmente ou com um leitor de micropoços equipado com um filtro de 650 nm. A extensão do desenvolvimento da cor é inversamente proporcional à quantidade da droga na amostra ou controle. Ou seja, a ausência da droga na amostra resultará em uma cor azul escuro/roxo e a presença da droga resultará em uma cor rosa claro a nenhum desenvolvimento da cor.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este kit pode ser utilizado até a data de validade no rótulo quando refrigerado a 4°C. Armazene os controles congelados se esses não forem utilizados dentro de 10 dias. Nota: Alguns kits requerem que os controles sejam congelados imediatamente após o recebimento. Refira-se ao rótulo do kit para detalhes.

### MATERIAIS FORNECIDOS – KIT ÚNICO (96 MICROPOÇOS)

1. **Tampão EIA:** 40 mL (pronto para o uso). Solução tampão fosfato-salino com um soro bovino e um conservante. Fornecido para a diluição do concentrado do conjugado droga-enzima e amostras.
2. **Concentrado de tampão de lavagem (10X):** 20 mL. Solução tampão fosfato-salino com um surfactante. Faça uma diluição 1:10 (1 parte do concentrado para 9 partes de água deionizada ou água ultrapura) antes da utilização. A solução diluída é utilizada para remover todo o conjugado e amostras não ligados nos micropoços após a incubação do conjugado.

3. **Substrato K-Blue®:** 20 mL (pronto para o uso). 3, 3', 5, 5' Tetrametilbenzidina estabilizada (TMB) com Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em um único frasco. É utilizado para o desenvolvimento da cor nos micropoços após a etapa de lavagem. Sensível à luz.
4. **Conjugado Droga-Enzima:** 200 µL. Concentrado do conjugado da droga-peroxidase de rábano. Dilua 1:180 antes da utilização.
5. **Micropoços revestidos com anticorpo:** placa Costar com 96 micropoços, em fileiras separáveis de 8 micropoços revestidos com anticorpos. A placa está pronta para ser utilizada. Não lave a placa.
6. **Solução Red Stop:** 20 mL (pronto para o uso). Reagente não ácido utilizado para cessar a reação enzimática.
7. **Controle Positivo CQ Qualitativo:** 750 µL fornecido (urina humana sintética). Não dilua.
8. **Controle Negativo CQ Qualitativo:** 750 µL fornecido (urina humana sintética). Não dilua.

## MATERIAIS FORNECIDOS – KIT A GRANEL (480 MICROPOÇOS)

1. **Tampão EIA:** 200 mL (pronto para o uso). Solução tampão fosfato-salino com soro bovino e um conservante. Fornecido para a diluição das amostras.
2. **Concentrado de tampão de lavagem (10X):** 100 mL. Solução tampão fosfato-salino com um surfactante. Faça uma diluição 1:10 com água deionizada ou água ultrapura antes da utilização. A solução diluída é utilizada para remover todo o conjugado e amostras não ligados nos micropoços após a incubação do conjugado.
3. **Substrato K-Blue®:** 100 mL (pronto para o uso). 3, 3', 5, 5' Tetrametilbenzidina estabilizada (TMB) com Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em um único frasco. É utilizado para o desenvolvimento da cor nos micropoços após a etapa de lavagem. Sensível à luz.
4. **Conjugado droga-enzima:** 1 mL. Concentrado do conjugado da droga-peroxidase de rábano. Dilua 1:180 antes da utilização.
5. **Micropoços revestidos com anticorpos:** 5 placas Costar, cada uma com 96 micropoços, em fileiras separáveis de 8 micropoços revestidos com anticorpos. As placas estão prontas para serem utilizadas. Não lave as placas.

## MATERIAIS FORNECIDOS – 50 PACOTES (4800 MICROPOÇOS)

1. **Tampão EIA:** 2 x frascos de 1 L (pronto para o uso). Solução tampão fosfato-salino com soro bovino e um conservante. Fornecido para a diluição das amostras.
2. **Concentrado de tampão de lavagem (10X):** 1 L. Solução tampão fosfato-salino com um surfactante. Faça uma diluição 1:10 com água deionizada ou água ultrapura antes da utilização. A solução diluída é utilizada para remover todo o conjugado e amostras não ligados nos micropoços após a incubação do conjugado.
3. **Substrato K-Blue®:** 1 L (pronto para o uso). 3, 3', 5, 5' Tetrametilbenzidina estabilizada (TMB) com Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em um único frasco. É utilizado para o desenvolvimento da cor nos micropoços após a etapa de lavagem. Sensível à luz.
4. **Conjugado droga-enzima:** 5 x 2 mL. Concentrado do conjugado da droga- peroxidase de rábano. Dilua 1:180 antes da utilização.
5. **Micropoços revestidos com anticorpo:** 50 placas Costar, cada uma com 96 micropoços, em fileiras separáveis de 8 micropoços revestidos com anticorpos. As placas estão prontas para serem utilizadas. Não lave as placas.
6. **Solução ácida Stop:** 500 mL (pronto para o uso). 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilizado para cessar a reação enzimática.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

1. Água deionizada.
2. Pipetas de precisão na faixa de 10 µL–1000 µL e ponteiros descartáveis.
3. Proveta para diluir e misturar o tampão de lavagem.
4. Cobertura para a placa ou filme plástico para cobrir a placa durante a incubação.
5. Vidraria limpa (ex., tubos de ensaio) para diluir o conjugado droga-enzima.

6. Leitor de micropoços com filtro de 650 nm se utilizar a Solução Red Stop ou filtro de 450 nm se 1N HCl for utilizado para cessar a reação. Nota: Não é necessário cessar a reação se a leitura for imediata. Micropoços onde a reação não foi interrompida devem ser lidos com um filtro de 650 nm.
7. Calibrador de limite.

### *MATERIAIS DE TESTE OPCIONAIS*

1. **Controle Positivo QC Qualitativo:** 5 X 750 µL (urina humana sintética). 1–5 frascos disponíveis mediante solicitação. Não dilua.
2. **Controle Negativo QC Qualitativo:** 5 X 750 µL (urina humana sintética). 1–5 frascos disponíveis mediante solicitação. Não dilua.
3. **Solução Red Stop:** 100 mL (pronto para o uso). Reagente não ácido utilizado para cessar a reação enzimática. Disponível mediante solicitação. Produto nº 301473.

### MATERIAIS OPCIONAIS

1. 1N HCl se a Solução Red Stop não for utilizada.
2. Agitador de placas.

### PRECAUÇÕES E NOTAS

1. **NÃO** utilize os kits ou seus componentes após a data de validade.
2. **NÃO** misture conjugados e placas provenientes de lotes de kits diferentes.
3. **NÃO** pipete os reagentes com a boca.
4. Coloque o Substrato K-Blue em um recipiente limpo. Para prevenir a contaminação do substrato, **NÃO** pipete diretamente do frasco.
5. Todos os espécimes devem ser considerados potencialmente infecciosos. Manuseie com a devida precaução.
6. Mantenha os micropoços cobertos, exceto quando estiver adicionando os reagentes, durante a lavagem e a leitura.
7. Os componentes do kit devem permanecer refrigerados quando não estiverem sendo utilizados.
8. Mantenha os controles congelados se não forem utilizados por mais de 10 dias. Evite ciclos de congelamento-descongelamento. Nota: Alguns kits requerem que os controles sejam congelados imediatamente após o recebimento. Refira-se ao rótulo do kit para detalhes.
9. Utilize técnica asséptica para abrir e remover os reagentes dos frascos.
10. **NÃO** fume, coma ou beba em áreas onde os espécimes ou reagentes estão sendo manipulados.
11. Não substitua o tampão de lavagem por água deionizada para a etapa de lavagem deste protocolo. Use somente o tampão de lavagem da Neogen.
12. Não utilize Azida de Sódio com as amostras, padrões e/ou calibradores.
13. Não reutilize os micropoços, esses devem ser utilizados somente uma vez.

### NOTAS DO PROCEDIMENTO

1. O saco de dessecante deve permanecer na embalagem de alumínio com as tiras de micropoços não utilizadas. Mantenha a embalagem fechada quando não estiver em uso para manter um ambiente seco.
2. Utilize ponteiros limpas para o tampão, conjugado droga-enzima, controles e amostras.
3. Antes de pipetar um reagente, enxágue a ponteira pipetando três vezes com o reagente.
4. Quando pipetar nos micropoços, **NÃO** deixe que a ponteira entre em contato com a parte interna do micropoço ou qualquer reagente que esteja dentro do micropoço. Isto pode resultar em contaminação cruzada.
5. Controles e amostras devem ser analisados em duplicatas.
6. O conjugado droga-enzima é mais estável em sua forma concentrada. Dilua somente o volume necessário para os micropoços que estão sendo utilizados.
7. Antes de abrir o frasco contendo o conjugado droga-enzima, bata o frasco na vertical para remover qualquer líquido que possa estar na tampa.
8. Antes da adição do substrato, limpe a parte exterior inferior dos micropoços com material livre de fibras, para remover a poeira e impressões digitais.
9. Misture delicadamente os espécimes e reagentes antes da utilização. Evite uma agitação vigorosa.

## PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

A diluições mínimas de amostras recomendadas estão listadas abaixo. Essas diluições podem mudar com base na determinação do seu laboratório. Todas as diluições de amostras devem ser feitas com o Tampão EIA da Neogen.

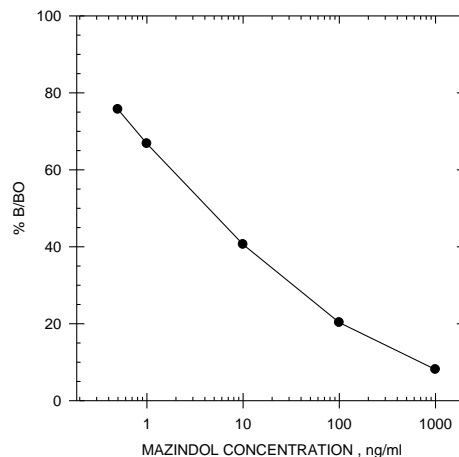
- a. **Urina:** uma diluição com o Tampão EIA pode ser necessária para reduzir o background natural, assim como alcançar a concentração desejada do valor de corte dentro da faixa do teste. Contate o seu representante da Neogen para assistência.
- b. **Sangue total:** uma diluição 1:5 (ex., 1 parte de amostra para 4 partes do Tampão EIA fornecido) é recomendada. Contate o seu representante da Neogen para assistência.
- c. **Outros tipos de amostras forenses:** contate o seu representante da Neogen para assistência.

## PRODECIMENTOS DO TESTE

Os procedimentos do teste a seguir podem ser realizados manualmente ou por um instrumento automatizado. Contate o seu representante da Neogen para assistência com protocolos para instrumentos automatizados.

1. Determine o número de micropoços a serem utilizados.
2. Prepare a solução do conjugado enzimático diluindo 1 parte do conjugado concentrado para 179 partes do Tampão EIA fornecido (1:180). Misture a solução por inversão. Não utilize um vortex. Exemplo: para duas tiras de 8 micropoços cada, adicione 25 µL do concentrado de conjugado enzimático para 4475 µL de Tampão EIA.
3. Adicione 20 µL da amostra, calibradores do laboratório e controles da Neogen aos micropoços apropriados em duplicatas. NÃO dilua os controles positivo e negativo da Neogen.
4. Adicione 180 µL do conjugado droga-enzima diluído em cada micropoço. Utilize pipetas de 8 ou 12 canais para uma rápida adição do conjugado.
5. Para análises manuais, misture agitando a placa delicadamente. Pode-se utilizar um agitador para placas.
6. Cubra a placa com um filme plástico ou cobertura para placas e incube à temperatura ambiente por 45 minutos.
7. Durante a incubação do conjugado, dilua o concentrado do tampão de lavagem a uma diluição 1:10 com água deionizada (ex., 20 mL do concentrado de tampão de lavagem com 180 mL de água deionizada.). Misture para completa homogeneização. A solução diluída permanece estável por 5 dias à temperatura ambiente ou 7 dias a 4°C.
8. Uma vez completa a incubação, descarte ou aspire o líquido dos micropoços. Bata a placa contra um papel toalha livre de fibras para remover o líquido remanescente.
9. Lave cada micropoço com 300 µL do tampão de lavagem diluído. Lavagem manual: para procedimentos de lavagem manual, repita a lavagem num total de 3 lavagens, inverta a placa para descartar qualquer líquido remanescente após cada lavagem. Após o término da última lavagem, limpe a parte exterior inferior dos micropoços com um papel toalha livre de fibras, para remover qualquer líquido que tenha permanecido na parte externa dos micropoços. Lavagem automatizada: se uma lavadora de micropoços automatizada for utilizada, lave a placa num total de 5 lavagens com 300 µL do tampão de lavagem diluído. É importante que a lavadora realize um ciclo final de aspiração para eliminar qualquer resíduo da solução de tampão de lavagem. Resíduos da solução de tampão de lavagem nos micropoços afetarão o desempenho do teste. Nota: água deionizada nunca deve ser utilizada para a etapa de lavagem dos micropoços.
10. Adicione 150 µL do substrato K-Blue em cada micropoço. Para análises manuais, utilize uma pipeta multicanal para melhores resultados.
11. Incube à temperatura ambiente por 30 minutos. Agite os micropoços delicadamente imediatamente antes de medir a absorbância.
12. Adicione 50 µL da solução Red Stop da Neogen em cada micropoço para cessar a reação enzimática. Misture delicadamente antes de medir a absorbância. Para sistemas automatizados, uma agitação de 10 segundos é suficiente. Meça a absorbância a um comprimento de onda de 650 nm. Os micropoços devem ser lidos dentro de 2 horas após a adição da solução Red Stop. Nota: A utilização da solução Red Stop da Neogen resultará em uma cor que varia de azul escuro/roxo a um rosa claro, com base na concentração da droga presente. Se 1 N HCl for utilizado, adicione 50 µL por micropoço e faça a leitura com um filtro de 450 nm. Todos os dados QC são gerados sem a utilização de um reagente para cessar a reação. Nota: Quando se utiliza o ácido Stop, os valores de densidade óptica (DO) serão aproximadamente o dobro quando comparados com os valores de DO obtidos com a solução Red Stop.

## CURVA PADRÃO EM TAMPÃO EIA



## SENSIBILIDADE

<b>Composto</b>	<b>I-50 em Tampão EIA</b>
Metabolito do Mazindol	0,55 ng/mL
Mazindol	1,1 ng/mL

O termo I-50 é utilizado para definir a sensibilidade do teste. Este número é derivado de uma curva padrão gerada com a droga em Tampão EIA. A concentração da droga que mostra 50% menos atividade na coloração do que o zero padrão, é considerada como o I-50.

## ESPECIFICIDADE

Composto	Composto Metabolito do Mazindol		% Reatividade cruzada
	Concentração (ng/mL)	Equivalentes (ng/mL)	
Metabolito do Mazindol	0,55	0,55	100%
Mazindol	1,1	0,55	56%
Hidroxizina	5500	0,55	0,1%
Pirilamina	27.500	0,55	0,02%

Nota: Equivalentes de Metabolitos do Mazindol representam 50% B/B<sub>0</sub> no ensaio de deslocamento em Tampão EIA.

*Compostos com reatividade cruzada abaixo de 0,01% não mostraram qualquer reação significativa até 10µg/mL.*

### TODOS OS COMPOSTOS ABAIXO POSSUEM REATIVIDADE CRUZADA <0,01%.

Acepromazina; Ácido aminocaproico; Anfetamina; Ácido Ascórbico; Benzoilecgonina; Benzfetamina; Brucina; Bumetanida; Buprenorfina; Butorfanol; Cafeína; Carfentanil; Clenbuterol; Dexametasona; Dextrometorfano; Diclofenaco; Dietilpropiona; Dihidrocodeína; Dimetilsulfóxido; Dipirona; Efedrina; Etamivan; Etil p-aminobenzoato; Fencanfamina; Fenfluramina; Fentanil; Flunixin; Flurotil; Furosemida; Glicopirrolato; Heparina; Hordenina; Hidrocortisona; Hidromorфона; Ibuprofeno; Isoxsuprina; Cetoprofeno; Lidocaína; MDMA (3,4-Metilenodioximetanfetamina); Mefexamida; Metaproterenol; Metanfetamina; Metocarbamol; Azul de Metileno; Metilfenidato; 6α-Metilprednisolona; Morfina-3-β-d-Glicuronídeo; Naproxeno; Niacinamida; Niquetamida; Orfenadrina; Oxifembutazona; Pemolina; Pentoxifilina; Pentilenotetrazol; Fendimetrazina;

Fenmetrazina; Fenotiazina; Fentermina; Fenilbutazona; Fenilpropanolamina; Picrotoxina; Polietilenoglicol; Prednisolona; Procaína; Promazina; Pseudoefedrina; Pirantel; Reserpina; Salbutamol; Salicilamida; Ácido Salicílico; Secobarbital; Tetrahidrozolina; Tiamina

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Cada laboratório deve determinar o nível do valor de corte para a sua aplicação individual. Quando possível, calibradores de limite e/ou padrões devem ser preparados na mesma matriz a ser testada.

**Resultado Positivo:** amostras com uma absorbância abaixo ou igual ao calibrador de limite do laboratório devem ser consideradas positivas. Todas as amostras positivas devem ser confirmadas por um método quantitativo como GC/MS.

**Resultado Negativo:** amostras com uma absorbância acima do calibrador de limite do laboratório devem ser consideradas negativas.

**Controles CQ Qualitativos:** os controles positivo e negativo da Neogen fornecidos no kit são somente para controle de qualidade (CQ). O único propósito desses controles é a verificação do desempenho adequado do teste. Os controles não são destinados para o uso como calibradores de limite. O controle positivo é detectado a uma alta concentração e o nível aproximado pode ser encontrado no rótulo.

Nota: o kit foi desenvolvido somente para fins de triagem. Recomenda-se que todas as amostras suspeitas sejam confirmadas por um método quantitativo como GC-MS ou HPLC.

## SUPORTE TÉCNICO

Para assistência técnica, contate o Departamento de Serviço Técnico da Neogen no telefone 19.3935-3727 ou no e-mail [info@neogendobrasil.com.br](mailto:info@neogendobrasil.com.br). Representantes estão disponíveis de Segunda a Sexta-Feira de 8:00 h – 18:00 h.

## DIREITOS AUTORAIS

Direitos autorais reservados em nível global. Nenhuma parte desta publicação deve ser reproduzida, transmitida, transcrita ou armazenada em qualquer sistema de recuperação de informação, ou traduzida em qualquer linguagem humana, ou computadorizada de qualquer forma ou por qualquer meio (manual, eletrônico, mecânico, magnético, óptico, químico ou de outra forma) sem autorização expressa por escrito.

## GARANTIA

A Neogen Corporation não fornece nenhuma garantia de qualquer tipo, expressa ou implícita, exceto que os materiais utilizados para a fabricação deste produto são de qualidade padrão. Se qualquer material estiver danificado, a Neogen Corporation fornecerá uma substituição do produto. O comprador assume todos os riscos e responsabilidades resultantes do uso deste produto e qualquer um dos modelos preditivos. Não há garantia de comercialização deste produto para quaisquer fins. A Neogen Corporation não será responsável por qualquer dano, incluindo danos especiais, ou consequentes, ou despesas derivadas do uso direto ou indireto deste produto.

Produtos rotulados com **SOMENTE PARA O USO FORENSE** são testes que não foram aprovados pelo FDA.