

## VETLISA BABESIA IgG

**REF VET038**

### INSTRUÇÕES DE USO

#### FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG contra *Babesia vogeli* em soro ou plasma de cães, por ensaio imunoenzimático de fase sólida, em microplaca. Somente para diagnóstico *in vitro*.

#### PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Enzimaimunoensaio ou ensaio imunoenzimático. O VETLISA BABESIA IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida, baseado no princípio de imunocaptura para a detecção qualitativa de anticorpos IgG contra *Babesia vogeli* em soro ou plasma. Anticorpos contra *Babesia vogeli* presentes na amostra, se ligam ao antígeno recombinante de *Babesia vogeli*, que reveste a microplaca, formando complexos imobilizados: antígeno de *Babesia vogeli* – anticorpos anti *Babesia vogeli*. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. O conjugado, formado por anticorpo anti-IgG de cão ligado a peroxidase, se liga ao complexo antígeno-anticorpo imobilizado na placa. Após a segunda incubação, a microplaca é lavada e incubada com substrato, e a cor azul é resultante da interação com os anticorpos contra o *Babesia vogeli* presentes na amostra. A solução de parada é adicionada para finalizar a reação, promovendo uma mudança de cor para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

#### REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Placa de Poliestireno, dividida em 12 tiras de 8 poços cada, impregnada com antígeno de *Babesia vogeli*.
- 2- Conjugado Concentrado (100x)** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução de anticorpo anti-IgG de cão ligado à Peroxidase.
- 3- Lavagem Concentrada (20x)** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão Fosfato, surfactante e conservante.
- 4- Diluente** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 5- Substrato TMB** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução contendo Tetrametilbenzidina (TMB < 1,0 mg/mL), Solução de Ácido Cítrico < 5% e Peróxido de Ureia < 1 %.
- 6- Solução de Parada** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução de Ácido Sulfúrico 1N.
- 7- Controle Negativo** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Soro negativo para anticorpos IgG contra *Babesia vogeli* com conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Soro positivo para anticorpos IgG contra *Babesia vogeli* com conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Seladores de Placa**

#### APRESENTAÇÃO

Componentes	Apresentação		
	1	2	5
	96 cavidades	192 cavidades	480 cavidades
<b>1- Placa Sensibilizada</b>	1 unidade	2 unidades	5 unidades
<b>2- Conjugado Concentrado (100x)</b>	1 x 300 µL	2 x 300 µL	5 x 300 µL
<b>3- Lavagem Concentrada (20x)</b>	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
<b>4- Diluente</b>	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
<b>5- Substrato TMB</b>	1 x 15 mL	2 x 15 mL	5 x 15 mL
<b>6- Solução de Parada</b>	1 x 15 mL	2 x 15 mL	5 x 15 mL
<b>7- Controle Negativo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>8- Controle Positivo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>9- Seladores de Placa</b>	3 unidades	6 unidades	15 unidades

#### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

##### Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instruções de uso (manual).

##### Materiais necessários, não contidos no Kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorvância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6- Cronômetro ou relógio.
- 7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

#### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito em temperatura ambiente (até 30°C) por até 5 dias. Manter ao abrigo de luz e evitar umidade. **Não congelar.**

#### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* veterinário profissional.**
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.
- 4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
- 5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.

**6-** A Solução de Parada contém Ácido Sulfúrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.

**7-** A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.

**8-** Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.

**9-** Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.

**10-** Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.

**11-** Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.

**12-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

**13-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha com dados de Segurança) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

**14-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

**15-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

#### AMOSTRAS

##### Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)

Hemólise, lipemia e bilirrubina (icterícia) podem interferir no resultado do teste. O resultado obtido de amostras nestas condições deve ser avaliado com cautela. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20 °C.

#### DESCRIÇÃO DO PROCESSO

##### Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit VETLISA BABESIA IgG é estável após aberto por até 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica. **ATENÇÃO: Os Controles Positivo e Negativo são prontos para o uso.**

#### PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

##### Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N° 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30 °C por até 30 dias. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

##### Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

## USO VETERINÁRIO

#### Solução de Conjugado

Diluir o Conjugado Concentrado (Reagente N° 2) na proporção de 1:101 em Diluente (Reagente N° 4). Prepare a solução no momento de realizar o ensaio.

Para realizar um ensaio utilizando todas as cavidades do kit, misture 110 µL do Conjugado Concentrado em 11 mL de Diluente. Para realizar um ensaio utilizando 8 cavidades (1 tira), misture 10 µL do Conjugado Concentrado em 1 mL de Diluente. **IMPORTANTE:** A solução de conjugado diluída não pode ser estocada. Por isso, prepare apenas a quantidade necessária para realizar o ensaio.

#### Diluição das Amostras

Em um tubo de ensaio, diluir 15 µL da amostra em 300 µL de Diluente (Reagente N° 4), se for realizar o ensaio em duplicata. Tampar o tubo e agitar em vórtex gentilmente ou homogeneizar manualmente por inversão. As diluições não podem ser armazenadas.

#### TÉCNICA

**Para uso em equipamentos automáticos, consulte o SAC (Serviço de Assessoria do Cliente).**

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 30 minutos. Retornar as tiras não utilizadas para a embalagem original selada.

- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (podendo ser testados em duplicata).
- 2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3- Pipetar 100 µL do Controle Negativo e do Controle Positivo nas cavidades previamente determinadas.

**Obs: Os controles estão prontos para o uso, não sendo necessário diluí-los.**

**4-** Pipetar 100 µL das Amostras previamente diluídas nas cavidades previamente determinadas. Na cavidade Branco, caso tenha feito a opção, pipetar somente 100 µL do diluente.

**5-** Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placa.

**6-** Incubar por 30 minutos a 37 °C ± 2 °C.

**7-** Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (lavadora) ou por decantação (manual). Usar 300µL/cavidade aproximadamente de Solução de Lavagem previamente diluída, para um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Agitar por três segundos em cada lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.

**IMPORTANTE:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.

**8-** Pipetar 100 µL de Conjugado previamente diluído em cada cavidade, inclusive na cavidade do Branco.

**9-** Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placa.

**10-** Incubar por 30 minutos a 37 °C ± 2 °C.

**11-** Repetir o item 7.

**12-** Adicionar 100 µL de Substrato TMB em cada microcavidade.

**13-** Homogeneizar gentilmente durante ± 3 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placa.

**14-** Incubar por 10 minutos a 37°C, protegido da luz.

**15-** Retirar o selador de placas das microcavidades.

**16-** Pipetar 100 µL de Solução de Parada em cada microcavidade.

**17-** Homogeneizar gentilmente durante ± 3 segundos.

**18-** Leia a absorvância em leitora de ELISA em filtro duplo de

450nm (filtro primário) / 630nm (filtro secundário) em até no máximo 10 minutos após adição da Solução de Parada.

**VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA**

Verifique se os resultados obtidos para leitura dos Controles e do Branco estão compatíveis com a especificação abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIA (FILTRO DUPLO)
Branco	< 0,050
Controle Negativo	0,100 a 0,300
Controle Positivo	> 0,800

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir o ensaio.

**Cálculos**

Calcular o Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:  
Cut Off = Absorbância Média do Controle Negativo + 0,300  
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Controle Negativo	A1 = 0,208
	A2 = 0,212
Cut Off = Absorbância Média do Controle Negativo + 0,300	(0,208 + 0,212) / 2 + 0,300 = 0,510

Calcular o Índice dividindo a absorbância da amostra pelo valor de Cut Off.  
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	0,992
Controle Negativo	0,210
Valor de Cut Off	0,510
Índice: Abs. da Amostra / Valor de Cut Off	0,992 / 0,510 = 1,95

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para a determinação dos resultados.

ITEM	ABSORBÂNCIA
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	≥ 0,9 e ≤ 1,1

**Nota:** Resultado indeterminado indica resposta do ensaio na faixa de indeterminação (zona cinzenta, entre os pontos de corte) e, isoladamente, não confirma nem exclui infecção. Pode refletir janela imunológica, início da soroconversão, declínio de anticorpos ou interferentes pré-analíticos. A interpretação deve considerar histórico e quadro clínico, com repetição do ensaio (preferencialmente em nova amostra), reamostragem em 7–14 dias e, conforme a suspeita e a fase da doença, realização de testes confirmatórios. A conclusão diagnóstica cabe ao Médico Veterinário, integrando sinais clínicos e exames complementares.

**LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

A presença de anticorpos do tipo IgG contra *Babesia vogeli* deve ser avaliada juntamente com as informações clínicas e demais dados de exames complementares. A produção de IgG geralmente se inicia entre 15 e 20 dias após a infecção e persiste por até 2 anos. A presença de IgG indica que o cão apresentou resposta imunológica frente à exposição contra *Babesia vogeli* no entanto, a ausência de anticorpos não exclui a infecção. Fatores como a fase da doença, a resposta imunológica individual, a quantidade de anticorpos disponíveis na amostra e a presença de fatores interferente devem ser considerados para a interpretação do resultado.

**CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE**

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das medições.

**DESEMPENHO DO PRODUTO**

**PRECISÃO**

**Repetibilidade**

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPETIBILIDADE	ABSORBÂNCIA		
	1	2	3
Média	0,780	0,980	0,090
Desvio Padrão	0,037	0,077	0,002
Coefficiente de Variação (%)	4,730	7,800	2,604

**Reprodutibilidade**

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPRODUTIBILIDADE	ABSORBÂNCIA		
	1	2	3
Média	0,780	1,000	0,093
Desvio Padrão	0,050	0,049	0,005
Coefficiente de Variação (%)	6,414	4,879	5,072

**SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA**

O kit VETLISA BABESIA IgG analisou amostras clínicas em comparação com outro método de ELISA. Os resultados mostram que o kit VETLISA BABESIA IgG apresenta sensibilidade clínica de 97,4% e especificidade clínica de 97,8%.

Método	Referência		Total	
	Resultado	Negativo		Positivo
VETLISA BABESIA IgG	Negativo	88	1	89
	Positivo	2	37	39
Resultado Total		90	38	128

**Sensibilidade Clínica:** 97,4% (37/38) (IC 95%; 92,34 a 100%)

**Especificidade Clínica:** 97,8% (88/90) (IC 95%; 94,77 a 100%)

**Precisão:** 97,7% [(88 + 37) / (90 + 38)]

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

A babesiose é uma enfermidade causada por protozoários do gênero *Babesia*, que podem acometer cães domésticos, animais silvestres e também o homem. A transmissão ocorre, principalmente, pela picada de carrapatos infectados durante o repasto sanguíneo. O período de incubação entre a infecção e o início dos sinais clínicos varia de 7 a 30 dias, podendo a doença manifestar-se nas formas superaguda, aguda crônica ou permanecer assintomática. Os sinais clínicos mais frequentemente observados incluem anemia, trombocitopenia, hemoglobinúria, febre, mucosas hipocoradas, taquicardia, taquipneia, depressão, anorexia, icterícia e esplenomegalia. Nos casos crônicos, é comum a presença de perda de peso. progressiva e anorexia persistente. Devido à semelhança clínica entre diferentes hemoparasitoses e à possibilidade de coinfeções, uma vez que compartilham o mesmo vetor, torna-se essencial a utilização de ferramentas diagnósticas

complementares, como testes sorológicos. Esses exames devem ser empregados como apoio à avaliação clínica, nunca de forma isolada. A interpretação dos resultados laboratoriais, aliada ao histórico e ao exame clínico, deve ser realizada de forma criteriosa, sendo a conclusão diagnóstica sempre de responsabilidade do médico-veterinário.

**REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

- 1- TABOADA J, MERCHANT SR. Babesiosis of Companion Animals and Man. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. n.1. v. 21, p. 103-123. Janeiro, 1991.
- 2- COMAZZI S, PALTRINIERI S, MANFREDI MT, AGNES F. Diagnosis of canine babesiosis by Percoll gradient separation of parasitized erythrocytes. Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation. v.11, p. 102-104. 1999.
- 3- BOOZER AL, MACINTIRE DK. CANINE BABESIOSIS. Vet Clin Small Anim, v.33, p.885-904, 2003.
- 4- BRANDÃO LP, HAGIWARA MK, MYIASHIRO SI. Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated with imidocarb dipropionate. Vet Parasitol., v.114, p.253-265, 2003.
- 5- VERCAMMEN F, DE DEKEN R, MAES L. Duration of protective immunity in experimental canine babesiosis after homologous and heterologous challenge. Veterinary Parasitology, v.68, p. 51-55, 1997.
- 6- Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

**GARANTIA DE QUALIDADE**

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes produzidos pela **Quibasa Química Básica Ltda** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.



**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca  
CEP 31.565 -130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

**ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR**

Serviço de Assessoria ao Cliente  
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

**Produto Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento desde 10/04/2019 sob o número 10.235/2019.**

**Responsável Técnico:**

Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20611)

**Revisão:** Janeiro/2026

**SIMBOLOGIA UNIVERSAL**

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

## VETLISA BABESIA IgG

**REF VET038**

### INSTRUCCIONES DE USO

#### FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra *Babesia vogeli* en suero o plasma de perros, por ensayo inmunoenzimático en fase sólida, en microplaca. Solo para diagnóstico *in vitro*.

#### PRINCIPIO DE ACCIÓN

**Metodología:** Enzaimunoen ensayo o ensayo inmunoenzimático El VETLISA BABESIA IgG es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida, basado en el principio de inmunocaptura para la detección cualitativa de anticuerpos IgG contra *Babesia vogeli* en suero o plasma. Los anticuerpos contra *Babesia vogeli* presentes en la muestra, se unen al antígeno recombinante *Babesia vogeli*, que recubre la microplaca, formando complejos inmovilizados: antígeno de *Babesia vogeli* – anticuerpos anti-*Babesia vogeli*. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. El conjugado, formado por el anticuerpo anti-IgG de perro unido a la peroxidasa, se une al complejo antígeno-anticuerpo inmovilizado en la placa. Después de la segunda incubación, la microplaca se lava y se incuba con sustrato, y el color azul resulta de la interacción con los anticuerpos contra *Babesia vogeli* presentes en la muestra. La solución de parada se agrega para finalizar la reacción, promoviendo un cambio de color a amarillo, medido en un lector de microplacas.

#### REAGENTES

**1- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Placa de poliestireno, dividida en 12 tiras de 8 pocillos cada una, impregnada con antígeno de *Babesia vogeli*.

**2- Conjugado Concentrado (100x)** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución de anticuerpo anti-IgG de perro ligado a Peroxidasa.

**3- Lavado Concentrado (20x)** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón de Fosfato, surfactante y conservante.

**4- Diluyente** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tamponada, surfactante, estabilizante y conservante.

**5- Sustrato TMB** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución que contiene Tetrametilbenzidina (TMB < 1.0 mg / mL), Solución de Ácido Cítrico <5% y Peróxido de Urea < 1%.

**6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Sulfúrico 1N.

**7- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Suero negativo para anticorpos IgG contra *Babesia vogeli* con conservante. **Potencialmente infeccioso.**

**8- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Suero positivo para anticorpos IgG contra *Babesia vogeli* con conservante. **Potencialmente infeccioso.**

**9- Selladores de Placa**

#### PRESENTACIÓN

Componentes	Presentación		
	1	2	3
	96 pocillos	192 pocillos	480 pocillos
<b>1- Placa Sensibilizada</b>	1 unidad	2 unidades	5 unidades
<b>2- Conjugado Concentrado (100x)</b>	1 x 300 µL	2 x 300 µL	5 x 300 µL
<b>3- Lavado Concentrado (20x)</b>	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
<b>4- Diluyente</b>	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
<b>5- Sustrato TMB</b>	1 x 15 mL	2 x 15 mL	5 x 15 mL
<b>6- Solución de Parada</b>	1 x 15 mL	2 x 15 mL	5 x 15 mL
<b>7- Control Negativo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>8- Control Positivo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>9- Selladores de Placa</b>	3 unidades	6 unidades	15 unidades

#### EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

##### Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.
- Instrucciones de uso (manual).

##### Materiales necesarios, no contenidos en el kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- 2- Repetidor para pipeteo repetitivo de volúmenes de 500 µL con coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplacas (opcional).
- 4- Lector de ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar los pozos.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.
- 8- Agua destilada o desionizada.
- 9- Herramientas de control de calidad.
- 10- Incubadora a 37 °C ± 2 °C.

#### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento do producto deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) por até 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

#### CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solo para uso de diagnóstico *in vitro* veterinario profesional.
- 2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.
- 3- El sobre que contiene la microplaca debe abrirse solo después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de los micropocillos no utilizados en el sobre, selle y almacene entre 2 y 8 °C.
- 4- El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.
- 5- Las columnas desionizadoras saturadas liberan agua alcalina,

diferentes iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.

**6-** La solución de parada contiene ácido sulfúrico, que es un ácido fuerte. Así que manipúlelo con el debido cuidado.

**7-** La manipulación de cualquier producto que contenga suero es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por lo tanto, es necesario tomar las debidas precauciones de bioseguridad al manipular estos productos.

**8-** Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre los micropocillos.

**9-** Como medida de protección, la placa debe cubrirse durante la reacción.

**10-** Asegúrese de que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante el ensayo.

**11-** No exponga los reactivos, especialmente el sustrato, a luz fuerte o vapores de hipoclorito durante los pasos de almacenamiento o incubación.

**12-** Recomendamos aplicar la normativa local, estatal y federal de protección ambiental para que la eliminación de reactivos y material biológico se realice de acuerdo con la legislación vigente.

**13-** Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponible en el sitio web [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) o a solicitud de la SAC (Servicio de Atención al Cliente) de Quibasa.

**14-** No utilice el producto en caso de daños en el embalaje.

**15-** Es fundamental que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a un mantenimiento periódico.

#### MUESTRAS

##### Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

La hemólisis, la lipemia y la bilirrubina (ictericia) pueden interferir con resultado de la prueba. Los resultados obtenidos de muestras en estas condiciones deben evaluarse con precaución. Las muestras pueden conservarse refrigeradas, entre 2 y 8 °C, durante un periodo máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a una temperatura de -20 °C.

#### DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

##### Estabilidad Después de Abierto

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit VETLISA BABESIA IgG es estable después de abrirlo hasta por 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de prueba y el entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

**ATENCIÓN: Los Controles Positivo y Negativo están listos para usar.**

#### PREPARACIÓN DE REACTIVOS DE TRABAJO

##### Solucion de Lavado

Diluir el contenido del vial N° 3 (Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Una vez preparada, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C por hasta 30 días. Puede conservarse a temperatura ambiente. Si se produce la cristalización, calentar a 37 °C hasta que se disuelva.

## USO VETERINARIO

#### Sustrato

El sustrato está listo para su uso.

#### Solución de Conjugado

Diluya el Conjugado Concentrado (Reactivo No. 2) en la proporción de 1:101 en Diluyente (Reactivo No. 4). Prepare la solución al realizar la prueba.

Para realizar un ensayo utilizando todos los pocillos del kit, mezcle 110 µL de Conjugado Concentrado en 11 mL de Diluyente. Para realizar un ensayo utilizando 8 pocillos (1 tira), mezcle 10 µL del Conjugado Concentrado en 1 mL de Diluyente.

**IMPORTANTE:** La solución de conjugado diluido no se puede almacenar. Por lo tanto, prepare solo la cantidad necesaria para realizar la prueba.

#### Dilución de Muestras

En un tubo de ensayo, diluya 15 µL de la muestra en 300 µL de Diluyente (Reactivo N° 4), si la prueba se va a realizar por duplicado. Tape el tubo y agite suavemente en vórtex o mezcle manualmente por inversión. Las diluciones no se pueden almacenar.

#### TÉCNICA

##### Para uso en equipos automáticos, consultar al Servicio de Atención al Cliente (SAC).

Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 30 minutos. Devuelva las tiras no utilizadas al embalaje original sellado.

**1-** Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (puede probar en duplicado).

**2-** Separar lo primero pocillo para el Blanco (OPCIONAL).

**3-** Pipetear 100 µL del Control Negativo e del Control Positivo en los pocillos previamente determinados.

**Nota: Los controles están listos para usar, no hay necesidad de diluirlos.**

**4-** Pipetear 100 µL de las muestras previamente diluidas en los pocillos previamente determinados. En la cavidad Blanco, si ha elegido, pipetear solo 100 µL del diluyente.

**5-** Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir las cavidades con sellador de placas.

**6-** Incubar por 30 minutos a 37 °C ± 2 °C.

**7-** Descartar el contenido de las cavidades por aspiración (lavadora) o por decantación (manual). Utilizar 300µL/pocillo aproximadamente de Solución de Lavado previamente diluida, para un total de cinco (5) ciclos de lavado. Agite durante tres segundos con cada lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, golpear la placa por unos segundos en papel absorbente.

**IMPORTANTE:** Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.

**8-** Pipetear 100 µL de Conjugado previamente diluido en cada pocillo, incluso en la cavidad del Blanco.

**9-** Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.

**10-** Incubar por 30 minutos a 37 °C ± 2 °C.

**11-** Repetir el ítem 7.

**12-** Agregar 100 µL de Sustrato TMB a cada pocillo.

**13-** Homogeneizar suavemente durante ± 3 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.

**14-** Incubar durante 10 minutos a 37°C, protegido de la luz.

**15-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.

**16-** Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todas las cavidades.

**17-** Homogeneizar suavemente durante ± 3 segundos.

**18-** Lea la absorbancia en un lector de ELISA en un filtro doble de 450 nm (filtro primario) / 630 nm (filtro secundario) dentro de un máximo de 10 minutos después de agregar la Solución de Parada.

### VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique se los resultados obtenidos para lectura de los Controles y el Blanco sean compatibles con la especificación:

ITEM	ABSORBANCIA (FILTRO DOBLE)
Blanco	< 0,050
Control Negativo	0,100 a 0,300
Control Positivo	> 0,800

Si los valores están fuera de los valores esperados, la prueba debe repetirse.

### Cálculos

Calcule el Cut Off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut-Off = Absorbancia de Control Negativo Promedio + 0,300

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo	A1 = 0,208
	A2 = 0,212
Cut Off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,300	$(0,208 + 0,212) / 2 + 0,300 = 0,510$

Calcule el índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de corte.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	0,992
Control Negativo	0,210
Valor de Cut Off	0,510
Índice: Abs. de la Muestra / Valor de Cut Off	$0,992 / 0,510 = 1,95$

### INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO

Después de calcular el índice de la muestra, considere los índices siguientes para determinar los resultados.

RESULTADOS	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	$\geq 0,9$ y $\leq 1,1$

**Nota:** Un resultado indeterminado indica una respuesta al ensayo dentro del rango indeterminado (zona gris entre los puntos de corte) y, por sí solo, no confirma ni descarta la infección. Puede reflejar la ventana inmunológica, el inicio de la seroconversión, la disminución de anticuerpos o interferencias preanalíticas. La interpretación debe considerar la historia clínica y el cuadro clínico, con la repetición de la prueba (preferiblemente con una nueva muestra), la remuestreación en 7-14 días y, según la sospecha y el estado de la enfermedad, la realización de pruebas confirmatorias. La conclusión diagnóstica recae en el veterinario, integrando los signos clínicos y las pruebas complementarias.

### LIMITACIONES DE PRUEBA

La presencia de anticuerpos IgG contra *Babesia vogeli* debe evaluarse junto con la información clínica y otros datos de pruebas complementarias. La producción de IgG suele comenzar entre 15 y 20 días después de la infección y persiste hasta dos años. La presencia de IgG indica que el perro ha demostrado una respuesta inmunitaria a la exposición a *Babesia vogeli*; sin embargo, la ausencia de anticuerpos no descarta la infección.

Al interpretar el resultado, se deben considerar factores como el estado de la enfermedad, la respuesta inmunitaria del individuo, la cantidad de anticuerpos disponibles en la muestra y la presencia de factores de interferencia.

### CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presenten una variabilidad analítica característica, que debe ser controlada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten evaluar la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

### DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

#### PRECISIÓN

##### Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPETIBILIDAD	ABSORBANCIA		
	1	2	3
Media	0,780	0,980	0,090
Desviación estándar	0,037	0,077	0,002
Coefficiente de Variación (%)	4,730	7,800	2,604

##### Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

REPRODUCTIBILIDAD	ABSORBANCIA		
	1	2	3
Media	0,780	1,000	0,093
Desviación estándar	0,050	0,049	0,005
Coefficiente de Variación (%)	6,414	4,879	5,072

### SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

El kit VETLISA BABESIA IgG analizó muestras clínicas en comparación con otro método de ELISA. Los resultados muestran que el kit VETLISA BABESIA IgG presenta la sensibilidad clínica del 97,4% y la especificidad clínica es del 97,8%.

Método	Referencia		Total	
	Resultado	Negativo		Positivo
VETLISA BABESIA IgG	Negativo	88	1	89
	Positivo	2	37	39
	<b>Resultado total</b>	90	38	128

**Sensibilidad Clínica:** 97,4% (37/38) (IC 95%: 92,34 a 100%)

**Especificidad Clínica:** 97,8% (88/90) (IC 95%: 94,77 a 100%)

**Precisión:** 97,7% [(88 + 37) / (90 + 38)]

### SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

La babesiosis es una enfermedad causada por protozoos del género *Babesia*, que puede afectar a perros domésticos, animales salvajes y humanos. La transmisión se produce principalmente por la picadura de garrapatas infectadas durante la ingestión de sangre. El período de incubación entre la infección y la aparición de los signos clínicos varía de 7 a 30 días, y la enfermedad puede manifestarse de forma hiperaguda, aguda, crónica o asintomática. Los signos clínicos más frecuentes incluyen anemia, trombocitopenia, hemoglobinuria, fiebre, palidez de las mucosas, taquicardia, taquipnea, depresión, anorexia, ictericia y esplenomegalia. En casos crónicos, son comunes la pérdida de peso progresiva y la anorexia persistente.

Debido a las similitudes clínicas entre las diferentes hemoparasitosis y la posibilidad de coinfecciones, al compartir el mismo vector, es fundamental el uso de herramientas diagnósticas complementarias, como las pruebas serológicas. Estas pruebas deben utilizarse como complemento a la evaluación clínica, nunca de forma aislada. Los resultados de laboratorio, combinados con la historia y el examen clínico, deben interpretarse con cuidado, siendo siempre la conclusión diagnóstica responsabilidad del veterinario.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**1-** TABOADA J, MERCHANT SR. Babesiosis of Companion Animals and Man. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. n.1. v. 21, p. 103-123. Janeiro, 1991.

**2-** COMAZZI S, PALTRINIERI S, MANFREDI MT, AGNES F. Diagnosis of canine babesiosis by Percoll gradient separation of parasitized erythrocytes. Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation. v.11, p. 102-104. 1999.

**3-** BOOZER AL, MACINTIRE DK. CANINE BABESIOSIS. Vet Clin Small Anim, v.33, p.885-904, 2003.

**4-** BRANDÃO LP, HAGIWARA MK, MYIASHIRO SI. Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated with imidocarb dipropionate. Vet Parasitol., v.114, p.253-265, 2003.

**5-** VERCAMMEN F, DE DEKEN R, MAES L. Duration of protective immunity in experimental canine babesiosis after homologous and heterologous challenge. Veterinary Parasitology, v.68, p. 51-55, 1997.

**6-** Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

### GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de Quibasa son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

### QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rúa Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

Servicio de Atención al Cliente  
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

**Producto con licencia en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento desde el 10/04/2019 con el número 10.235/2019.**

### Responsable técnico:

Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20611)

Revisión: Enero/2026

## SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

## VETLISA BABESIA IgG

**REF VET038**

### INSTRUCTIONS FOR USE

#### FUNCTION

Test for qualitative determination of IgG antibodies against *Babesia vogeli* using dog serum or plasma, by solid phase enzyme immunoassay, in microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

#### PRINCIPLE OF ACTION

**Methodology:** Enzyme immunoassay or immunoenzymatic  
The VETLISA BABESIA IgG is an immunoenzymatic assay in solid phase, based on the principle of immunocapture for the qualitative detection of IgG antibodies against *Babesia vogeli* in serum or plasma. Antibodies against *Babesia vogeli* present in the sample, bind to the recombinant antigen of *Babesia vogeli* coated on the microplate, forming immobilized complexes: *Babesia vogeli* antigen – anti-*Babesia vogeli* antibodies. After the initial incubation, the microplate is washed to eliminate unbound materials. The conjugate, formed by the anti-dog IgG antibody conjugated to peroxidase, binds the immobilized antigen-antibody complex on the plate. After the second incubation, the microplate is washed and incubated with substrate, and the blue color results from the interaction with the antibodies against *Babesia vogeli* present in the sample. The stop solution is added to stop the reaction, promoting a color change to yellow, measured in a microplate reader.

#### REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Polystyrene plate, divided into 12 strips of 8 wells each, impregnated with *Babesia vogeli* antigen.
- 2- Concentrated Conjugate (100x)** - Store between 2 and 8°C. Contains: Peroxidase-linked anti-dog IgG antibody solution.
- 3- Concentrated Wash (20x)** - Store between 2 and 8°C. Contains: Phosphate Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4- Diluent** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 5- Substrate TMB** - Store between 2 and 8°C. Contains: Solution containing Tetramethylbenzidine (TMB < 1.0 mg / mL), Citric Acid Solution <5% and Urea Peroxide <1%.
- 6- Stop Solution** - Store between 2 and 8°C. Contains: 1N Sulfuric Acid.
- 7- Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Serum containing negative serum for IgG antibodies against *Babesia vogeli* with preservative. **Potentially infectious.**
- 8- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Serum containing positive serum for IgG antibodies against *Babesia vogeli* with preservative. **Potentially infectious.**
- 9- Plate Sealers**

#### PRESENTATIONS

COMPONENTS	PRESENTATION		
	1	2	3
	96 cavities	192 cavities	480 cavities
<b>1- Sensitized Plate</b>	1 unit	2 units	5 units
<b>2- Concentrated Conjugate (100x)</b>	1 x 300 µL	2 x 300 µL	5 x 300 µL
<b>3- Concentrated Wash (20x)</b>	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
<b>4- Diluent</b>	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
<b>5- Substrate TMB</b>	1 x 15 mL	2 x 15 mL	5 x 15 mL
<b>6- Stop Solution</b>	1 x 15 mL	2 x 15 mL	5 x 15 mL
<b>7- Negative Control</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>8- Positive Control</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>9- Plate Sealers</b>	3 units	6 units	15 units

#### EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

##### Materials contained in the kit:

- Reagents described in the previous table.
- Instructions for use (manual).

##### Materials needed, but not contained in the kit:

- 1- Pipettes capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with a variation coefficient of less than 1.5%.
- 2- Repipettor for repetitive pipetting of volumes of 500 µL with coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3- Microplate washer (optional).
- 4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Absorbent paper to dry the wells.
- 6- Stopwatch or watch.
- 7- Bottle to store the Washing Solution after dilution.
- 8- Distilled or deionized water.
- 9- Quality Control Tools.
- 10- Incubator at 37 °C ± 2 °C.

#### STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The product storage temperature should be 2 to 8 °C. Transport can be carried out at room temperature (30°C) for up to 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

#### SPECIAL CARE

- 1- For professional veterinary *in vitro* diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
- 3- The sachet containing the microplate must be opened only after reaching room temperature. Replace strips from unused microwells in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.
- 4- The water used to clean the material must be fresh and free of contaminants.
- 5- Saturated deionizer columns release alkaline water, different ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- 6- The Stop Solution contains Sulfuric Acid which is a strong acid. So

handle it with due care.

7- The handling of any product that contains serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, it is necessary to take proper biosafety precautions when handling these products.

8- Pipette the reagents always in the same order to minimize the difference in reaction time between the microwells.

9- For protection measure, the plate must be covered during the reaction.

10- Ensure that the bottom of the cavity is clean and dry and that there are no bubbles on the surface of the liquid before reading the plate. Do not allow wells to dry during the assay.

11- Do not expose reagents, especially Substrate, to strong light or Hypochlorite vapors during storage or incubation steps.

12- We recommend applying local, state and federal regulations for environmental protection so that the disposal of reagents and biological material is done in accordance with current legislation.

13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) or upon request by the SAC (Service of Customer Service) by Quibasa.

14- Do not use the product in case of damage to the packaging.

15- It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

#### SAMPLES

##### Serum or Plasma (EDTA or Heparin)

Hemolysis, lipemia and bilirubin (jaundice) can interfere with test result. The result obtained from samples in these conditions must be assessed with caution. The samples can be kept refrigerated, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 5 days. If the samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at a temperature of -20 °C.

#### PROCESS DESCRIPTION

##### Stability After Open

The results of the stability test show that the VETLISA BABESIA IgG kit is stable after being opened up to 30 days. This stability may vary according to the test conditions and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using internal controls of the kit and the criteria for validating the technique.

**ATTENTION: The Positive and Negative Controls are ready to use.**

#### PREPARATION OF WORK REAGENTS

##### Washing Solution

Dilute the contents of vial N° 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30 °C for up to 30 days. It can be stored at room temperature. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolved.

##### Substrate

The Substrate is ready for use.

##### Conjugate Solution

Dilute the Concentrated Conjugate (Reagent N° 2) in the ratio of 1:101 in Diluent (Reagent N° 4). Prepare the solution at the moment of performing the test.

To perform an assay using all cavities in the kit, mix 110 µL of

## VETERINARY USE

Concentrated Conjugate in 11 mL of Diluent.

To perform an assay using 8 cavities (1 strip), mix 10 µL of the Concentrated Conjugate in 1 mL of Diluent.

**IMPORTANT:** The diluted conjugate solution cannot be stored. Therefore, prepare only the amount necessary to perform the test.

##### Sample Dilution

In a test tube, dilute 15 µL of the sample in 300 µL of Diluent (Reagent N° 4), if performing the assay in duplicate. Cap tube and vortex gently or mix manually by inversion. Dilutions cannot be stored.

#### TECHNIQUE

##### For use in automatic equipment, consult the Customer Service Department (SAC).

Before starting the assay, place all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 30 minutes. Return the unused strips to the original sealed packaging.

1- Separate the wells to be used considering: Controls and Samples ((it is recommended to test in duplicate).

2- Separate the first well for the Blank (OPTIONAL).

3- Pipette 100 µL of the Negative Control and the Positive Control into the previously determined cavities.

**Note: The controls are ready to use, there is no need to dilute them.**

4- Pipette 100 µL of the previously diluted samples into the previously determined cavities. In the Blank cavity, if you have chosen, pipette only 100 µL of the diluent

5- Homogenize gently for ± 10 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

6- Incubate for 30 minutes at 37 °C ± 2 °C.

7- Discard the content of the cavities by aspiration (washing machine) or by decantation (manual). Use approximately 300µL/well of previously diluted Wash Solution, for a total of five (5) wash cycles. Shake for three seconds after each wash cycle. To guarantee the drying of the plate, at the end of the wash, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.

**IMPORTANT:** Poor washing/drying can cause inadequate results.

8- Pipette 100 µL of the Conjugate previously diluted into each well, even in the Blank cavity.

9- Homogenize gently for ± 10 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

10- Incubate for 30 minutes at a 37 °C ± 2 °C.

11- Repeat item 7.

12- Add 100 µL of Substrate TMB into each well.

13- Homogenize gently for ± 3 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

14- Incubate for 10 minutes at 37°C, protected from light.

15- Remove the plate sealer from the cavities.

16- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.

17- Homogenize gently for ± 3 seconds

18- Read the absorbance in an ELISA reader on a dual filter 450 nm (primary filter) / 630nm (secondary filter) within a maximum of 10 minutes after adding the Stop Solution.

## TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained from reading the Controls and the Blank are compatible with the specification above:

ITEM	ABSORBANCE (DUAL FILTER)
Blank	< 0.050
Negative Control	0.100 a 0.300
Positive Control	> 0.800

If the values are out the expected ones, the test should be repeated.

## Calculations

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = Average Negative Control Absorbance + 0.300

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Negative Control	A1 = 0.208 A2 = 0.212
Cut Off = Negative Control Average Absorbance + 0.300	(0.208 + 0.212) / 2 + 0.300 = 0.510

Calculate the index by dividing the absorbance of the sample by the cut off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	0.992
Negative Control	0.210
Cut Off Value	0.510
Index: Sample Abs. / Cut Off Value	0.992 / 0.510 = 1.95

## INTERPRETATION OF THE RESULT

After calculating the sample index, consider the indices below to determine the results.

RESULTS	INDEX
Negative	< 0.9
Positive	> 1.1
Undetermined	≥ 0.9 y ≤ 1.1

**Note:** An indeterminate result indicates an assay response within the indeterminate range (gray zone between the cutoff points) and, on its own, neither confirms nor excludes infection. It may reflect the immunological window, onset of seroconversion, declining antibodies, or pre-analytical interferences. The interpretation should consider the history and clinical presentation, with repeat testing (preferably on a new sample), resampling in 7–14 days, and, depending on the suspicion and stage of the disease, confirmatory testing. The diagnostic conclusion rests with the veterinarian, integrating clinical signs and complementary tests.

## PROCEDURE LIMITATIONS

The presence of IgG antibodies against *Babesia vogeli* should be evaluated along with clinical information and other data from complementary tests. IgG production usually begins between 15 and 20 days after infection and persists for up to 2 years. The presence of IgG indicates that the dog has demonstrated an immune response to exposure to *Babesia vogeli*; however, the absence of antibodies does not rule out infection. Factors such as the stage of the disease, the individual's immune response, the amount of antibodies available in the sample, and the presence of interfering factors should be considered when interpreting the result.

## INTERNAL QUALIT CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement

systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

## PRODUCT PERFORMANCE

### ACCURACY

#### Repeatability

Repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following results:

REPEATABILITY	ABSORBANCE		
	1	2	3
Mean	0.780	0.980	0.090
Standard Deviation	0.037	0.077	0.002
Coefficient of Variation (%)	4.730	7.800	2.604

#### Reproducibility

Reproducibility was calculated from 10 successive determinations over 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following results:

REPRODUCTIBILITY	ABSORBANCE		
	1	2	3
Mean	0.780	1.000	0.093
Standard Deviation	0.050	0.049	0.005
Coefficient of Variation (%)	6.414	4.879	5.072

## CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

The kit VETLISA BABESIA IgG analyzed clinical samples compared to other ELISA method. The results show that the kit VETLISA BABESIA IgG presents a clinical sensitivity of 97.4% and a clinical specificity of 97.8%.

Method	Reference		Total	
	Result	Positive		Negative
VETLISA BABESIA IgG	Positive	88	1	89
	Negative	2	37	39
Total Result		90	38	128

**Clinical Sensitivity:** 97.4% (37/38) (IC 95%; 92.34 a 100%)

**Clinical Specificity:** 97.8% (88/90) (IC 95%; 94.77 a 100%)

**Precision:** 97.7% [(88 + 37) / (90 + 38)]

## CLINICAL SIGNIFICANCE

Babesiosis is a disease caused by protozoa of the genus *Babesia*, which can affect domestic dogs, wild animals, and humans. Transmission occurs primarily through the bite of infected ticks during a blood meal. The incubation period between infection and the onset of clinical signs ranges from 7 to 30 days, and the disease can manifest as peracute, acute, chronic, or asymptomatic. The most frequently observed clinical signs include anemia, thrombocytopenia, hemoglobinuria, fever, pale mucous membranes, tachycardia, tachypnea, depression, anorexia, jaundice, and splenomegaly. In chronic cases, progressive weight loss and persistent anorexia are common. Due to the clinical similarities between different hemoparasitoses and the possibility of coinfections, since they share the same vector, the use of complementary diagnostic tools, such as serological tests, is essential. These tests should be used to support clinical evaluation, never in isolation. Laboratory results, combined with the history and clinical examination, should be interpreted carefully, with the diagnostic conclusion always being the veterinarian's responsibility.

## BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1- TABOADA J, MERCHANT SR. Babesiosis of Companion Animals and Man. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. n.1. v. 21, p. 103-123. Janeiro, 1991.

2- COMAZZI S, PALTRINIERI S, MANFREDI MT, AGNES F. Diagnosis of canine babesiosis by Percoll gradient separation of parasitized erythrocytes. Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation. v.11, p. 102-104. 1999.

3- BOOZER AL, MACINTIRE DK. CANINE BABESIOSIS. Vet Clin Small Anim, v.33, p.885-904, 2003.

4- BRANDÃO LP, HAGIWARA MK, MYIASHIRO SI. Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated with imidocarb dipropionate. Vet Parasitol., v.114, p.253-265, 2003.

5- VERCAMMEN F, DE DEKEN R, MAES L. Duration of protective immunity in experimental canine babesiosis after homologous and heterologous challenge. Veterinary Parasitology, v.68, p. 51-55, 1997.

6- Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

## QUALITY GUARANTEE

Before being released for consumption, all Quibasa reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured until the validity date mentioned on the packaged, as long as they are stored and transported under the appropriate conditions.



**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

## CONSUMER SERVICE

Customer Support Service

Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

**Product licensed in the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply since 10/04/2019 with the number 10.235/2019.**

**Technical manager:** Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20611)

**Review:** January/2026

## UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER