



# BÜHLMANN

## GanglioCombi<sup>®</sup> *Light* ELISA

avec les marqueurs enzymatiques Mix IgG/IgM, IgG et IgM

Détection des anticorps anti-ganglioside  
par ELISA  
(GM1, GD1b et GQ1b)

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*

EK-GCL-S      96 tests

Date de publication : 2026-05-04  
Version A2



**BÜHLMANN Laboratories AG**

Baselstrasse 55  
4124 Schönenbuch, Suisse  
Tel.: +41 61 487 12 12  
Fax: +41 61 487 12 34  
info@buhlmannlabs.ch

## UTILISATION PRÉVUE

Le test GanglioCombi® *Light* ELISA de BÜHLMANN est un dosage diagnostique *in vitro* destiné à la détermination semi-quantitative des anticorps IgG et/ou IgM dirigés contre des antigènes/épitopes neuronaux sélectionnés dans des échantillons de sérum provenant de patients diagnostiqués avec des neuropathies périphériques auto-immunes ou soupçonnés d'être atteints de telles neuropathies. Les résultats du dosage peuvent être utilisés pour confirmer le diagnostic de neuropathies périphériques auto-immunes en conjonction avec d'autres résultats cliniques et analyses de laboratoire.

Pour utilisation en laboratoire par des professionnels de santé uniquement. Non automatisé.

## APPLICATION PRÉVUE

Les trois marqueurs enzymatiques fournis dans le kit permettent trois algorithmes de test différents :

1. L'utilisation du mélange de conjugués IgG/IgM (appelé Mix ci-après) permet de détecter la présence d'anticorps anti-neuronaux suggérant une neuropathie auto-immune.
2. L'utilisation des conjugués individuels IgG et/ou IgM permet la détermination de l'isotype des anticorps.
3. Pour les analyses de laboratoire, le dépistage initial des échantillons en utilisant le Mix (option 1) peut être suivi, pour les échantillons positifs, de l'identification de l'isotype en utilisant les conjugués IgG et IgM individuels (option 2), si nécessaire.

## PRINCIPE DU DOSAGE

Le test BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA permet la mesure sélective d'anticorps anti-ganglioside dans le sérum. La microplaque est revêtue des gangliosides : GM1, GD1b et GQ1b.

Les sérums de patient, les contrôles et le calibrateur sont ajoutés dans les puits de la microplaque. Après 2 heures d'incubation à 2-8 °C et des étapes de lavage, les anticorps de détection (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM) conjugués à la peroxydase de raifort (HRP) détectent les anticorps anti-ganglioside liés aux gangliosides cotés sur la plaque. Après 2 nouvelles heures d'incubation et des étapes de lavage supplémentaires, le substrat chromogène de la HRP, la tétraméthylbenzidine (TMB), est ajouté. La solution prend une coloration bleue qui vire au jaune après l'ajout de la solution stop. L'absorption est mesurée à 450 nm.

L'absorbance mesurée est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans un échantillon donné. Les titres d'anticorps sont exprimés en rapports au calibrateur en % et peuvent être assignés à des catégories de titre (négatif, zone grise, positif).

## RÉACTIFS FOURNIS ET PRÉPARATION

Réactifs	Quantité	Code	Reconstitution
<b>Microplaque</b> cotée avec les gangliosides	12 barrettes de 8 puits avec support	B-GCL-MP	Prêt à l'emploi
<b>Film adhésif</b>	3 exemplaires		
<b>Tampon de lavage concentré (10x)</b> avec conservateurs	1 flacon x 100 mL	B-GCO-WB	A diluer avec 900 mL d'eau déionisée
<b>Tampon d'incubation</b> avec conservateurs	1 flacon x 100 mL	B-GCO-IB	Prêt à l'emploi
<b>Calibrateur</b> lyophilisés avec conservateurs	1 flacon	B-GCO-CA	Ajouter 1,5 mL de tampon d'incubation
<b>Contrôles négatif, bas, moyen</b> <sup>1</sup> lyophilisés avec conservateurs	3 flacons	B-GCO-CONSET	Ajouter 1,5 mL de tampon d'incubation
<b>Marqueur enzymatique Mix IgG/IgM</b> anticorps anti-IgG et IgM humain conjugué à la HRP dans un tampon de matrice contenant des conservateurs	1 flacon x 11 mL	B-GCO-ELGM	Prêt à l'emploi
<b>Marqueur enzymatique IgG</b> anticorps anti-IgG humain conjugué à la HRP dans un tampon de matrice contenant des conservateurs	1 flacon x 11 mL	B-GCO-ELG	Prêt à l'emploi
<b>Marqueur enzymatique IgM</b> anticorps anti-IgM humain conjugué à la HRP dans un tampon de matrice contenant des conservateurs	1 flacon x 11 mL	B-GCO-ELM	Prêt à l'emploi
<b>Substrat TMB</b> TMB dans un tampon citrate	1 flacon x 11 mL	B-TMB	Prêt à l'emploi
<b>Solution stop</b> acide sulfurique 0,25 M	1 flacon x 11 mL	B-ST5	Prêt à l'emploi <b>Agent corrosif</b>

Tableau 1

<sup>1</sup> Les contrôles contiennent des niveaux d'anticorps anti-GM1 spécifiques à chaque lot. Se référer à la fiche additionnelle de CQ pour connaître les valeurs de DO moyennes réelles et le ratio en %.

## CONSERVATION ET PEREMPTION DES REACTIFS

Réactifs scellés / non ouverts	
Stocker à 2-8 °C. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption figurant sur les étiquettes.	
Réactifs ouverts / reconstitués	
Microplaque	Replacer immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette contenant les sachets de dessiccateur puis refermer soigneusement le joint d'étanchéité. Stocker jusqu'à 6 mois à 2-8 °C.
Tampon de lavage dilué	Stocker jusqu'à 6 mois à 2-8 °C.
Tampon d'incubation	
Marqueurs enzymatiques	
Substrat TMB	
Calibrateur	
Contrôles	
Solution stop	Stocker jusqu'à 6 mois à 18-28 °C.

Tableau 1

## MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Pipettes de précision à pointes jetables : pipettes de 10 µL, 20 µL, 100 µL et 1000 µL
- Tubes jetables en polypropylène ou polystyrène pour la préparation des dilutions d'échantillons
- Éprouvette graduée de 1000 mL pour la dilution du tampon de lavage
- Laveur de microplaque
- Papier absorbant
- Agitateur de microplaque
- Lecteur de microplaques pour la mesure de l'absorbance à 450 nm

## AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

### Précautions de sécurité

- Ce test est uniquement pour une utilisation en diagnostic *in vitro*.
- Le calibrateur et les contrôles de ce kit contiennent des composants d'origine humaine. Bien qu'ils aient été testés négatifs au VHB, au VHC et au VIH1/2, les réactifs doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux et conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) en respectant les précautions appropriées.
- Ce kit contient des composants classés conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 :
  - La solution stop contient de l'acide sulfurique (conc. 2,5-5 %) ; ainsi, les réactifs peuvent provoquer une irritation cutanée (H315), une irritation oculaire grave (H319), et peuvent être corrosifs pour les métaux. (H290).
  - Le calibrateur, les contrôles et les marqueurs enzymatiques contiennent du chlorhydrate de 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (conc. ≥ 0,0015 %), ainsi les réactifs peuvent provoquer des réactions allergiques cutanées (H317).
  - Le tampon d'incubation et le tampon de lavage contiennent du sulfate de gentamicine, ainsi, les

réactifs peuvent entraîner une réaction allergique cutanée (H317).

- Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact accidentel, rincer immédiatement à grande eau pour éviter tout risque d'irritation/ brûlures.
- Traiter les réactifs et les produits chimiques comme des déchets dangereux conformément aux directives ou aux réglementations de sécurité nationales relatives aux substances présentant un risque biologique.

### Précautions techniques

- Lire attentivement les instructions avant de réaliser le test. Les performances du test seront dégradées par une altération ou une mauvaise dilution des réactifs, ou si ces derniers sont stockés dans des conditions ne respectant pas les instructions d'utilisation ci-détaillées.

### Procédure ELISA

#### Température des réactifs

- Préparer les réactifs avant de démarrer la procédure de dosage. Étapes 3-9 : Les réactifs utilisés dans les étapes 3 à 9 doivent être froids (2-8 °C) et maintenus à basse température lors du pipetage et du lavage. Recommandation : préparer le tampon de lavage le jour qui précède la réalisation du dosage et le placer au réfrigérateur pendant une nuit.
- Réaliser toutes les étapes de lavage avec du tampon de lavage froid (2-8 °C).
- Equilibrer le substrat TMB et la solution stop à température ambiante (18-28 °C) au début de la procédure de dosage.

#### Étapes de lavage

- Les étapes de lavage 3, 6 et 9 sont cruciales pour éliminer les résidus résultant du processus de production et/ou les éventuels anticorps potentiellement non liés dans les puits.
- Un laveur automatique fonctionnant en « mode plaque » est fortement recommandé : chaque étape du processus (distribution/aspiration) est ainsi mise en œuvre sur la totalité des barrettes, séquentiellement, avant que l'instrument ne passe au cycle de lavage suivant.
- Vérifier que tous les puits sont complètement vides après le dernier cycle de lavage.

#### Incubation du substrat

- Étape 11 : agiter les microplaques pendant l'incubation avec le substrat. En fonction du modèle d'agitateur de plaque, une vitesse de 400 à 600 rpm est recommandée. La solution doit bouger dans les puits sans déborder ni se renverser.

#### Contenu du kit

- Chaque composant ne doit pas être utilisé après la date de péremption imprimée sur les étiquettes.
- Ne pas mélanger les réactifs issus de lots différents.
- S'assurer impérativement qu'aucune contamination entre réactifs, échantillons ou puits ne se produit.
- Les micropuits ne peuvent pas être réutilisés.

## PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

La procédure exige respectivement < 0,1 mL de sang ou < 50 µL de sérum.

Prélever le sang dans des tubes pour ponction veineuse simples sans aucun additif et éviter toute hémolyse. Préparer le sérum conformément aux instructions du fabricant. Décanter le sérum.

Les échantillons de sérum peuvent être conservés jusqu'à 8 semaines entre 2 et 8 °C, jusqu'à 1 semaine à 28 °C et jusqu'à 25 mois à une température ≤ 20 °C. Les échantillons congelés doivent être décongelés et mélangés soigneusement par rotation ou retournement à faible vitesse avant utilisation.

Il est recommandé de préparer des aliquots d'échantillons de sérum avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation/décongélation.

## PROCEDURE DE DOSAGE

### Deux options sont possibles :

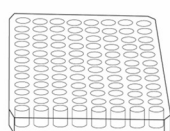
- (1) La détection du mélange d'isotypes (IgG et IgM) : ajouter le Mix de marqueurs enzymatiques à l'étape 7
- (2) La détection des isotypes IgG ou IgM : ajouter soit le marqueur enzymatique IgG, soit le marqueur enzymatique IgM à l'étape 7

*Remarque : équilibrer la solution de substrat TMB à température ambiante (18-28 °C).*

- Diluer les échantillons au 1/50e avec du tampon d'incubation. Utiliser p. ex. 10 µL de sérum + 490 µL de tampon d'incubation froid(!) (2-8 °C). Mélanger complètement au vortex et laisser les échantillons dilués, ainsi que le calibrateur et les contrôles reconstitués, à 2-8 °C pendant 30 minutes avant pipetage (consulter les étapes 4a et b).
- Préparer un support de plaque avec un nombre de barrettes suffisant pour tester le nombre requis de calibrateurs, de contrôles et d'échantillons. Retirer les barrettes en surplus du support et les replacer immédiatement dans la pochette prévue à cet effet contenant les sachets de dessiccateur. Conserver au réfrigérateur.

*Remarque : utiliser des réactifs froids dans les étapes 3 à 9.*

- Laver les puits deux fois avec au minimum 300 µL de tampon de lavage froid(!) (2-8 °C) par puits. Vider les puits et taper fermement la plaque sur le papier absorbant pour éliminer complètement le liquide restant.



laver 2 x

→ vider et taper

*Remarque : continuer sans interruption avec l'étape suivante.*

4a. Pipeter 100 µL de calibrateur dans le puits A1 (consulter la figure 1A pour l'option 1 ou la figure 1B pour l'option 2).

4b. Pipeter 100 µL de contrôle moyen dans le puits B1, de contrôle bas dans le puits A2 et de contrôle négatif dans le puits B2 (consulter la figure 1A ou 1B).

*Remarque pour l'option 1 : Si plus de trois barrettes sont utilisées par analyse, le calibrateur et les contrôles peuvent être testés en double (voir la figure 1A).*

*Remarque pour l'option 2 : Le calibrateur et les contrôles doivent être analysés séparément pour les isotypes IgG et IgM (voir la figure 1B).*

4c. Pipeter 100 µL d'échantillon 1 dilué dans les puits C1-E1 (consulter la figure 1A ou 1B).

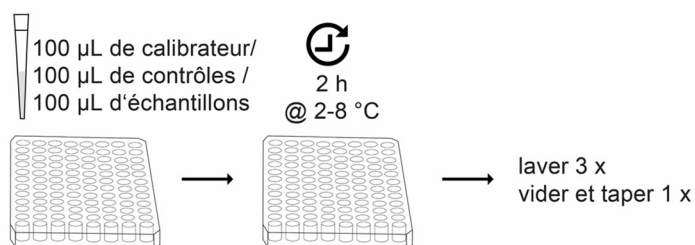
4d. Pipeter 100 µL d'échantillon 2 dilué dans les puits F1-H1 (consulter la figure 1A ou 1B).

4e. Pipeter 100 µL des échantillons 3 à 24 dilués (pour l'option 1) ou 3 à 12 dilués (pour l'option 2) dans les puits suivants (consulter la figure 1A ou 1B).

*Remarque pour l'option 2 : répéter le pipetage des échantillons 1 à 12 dans le même ordre dans les puits restants pour le tester le second isotype.*

5. Recouvrir la plaque d'un film adhésif et incuber pendant 2 heures (± 5 min) à 2-8 °C (ne pas secouer la plaque).

6. Retirer le film adhésif de la plaque. Vider les puits et les laver trois fois avec au minimum 300 µL de tampon de lavage froid(!) (2-8 °C) par puits. Vider les puits et taper fermement la plaque sur le papier absorbant pour éliminer complètement le tampon de lavage.



### Pour l'option 1 : Détection du Mix d'isotypes

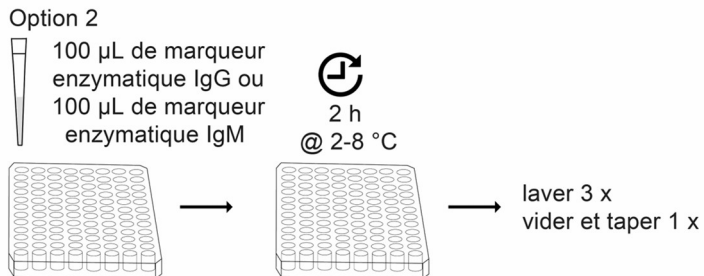
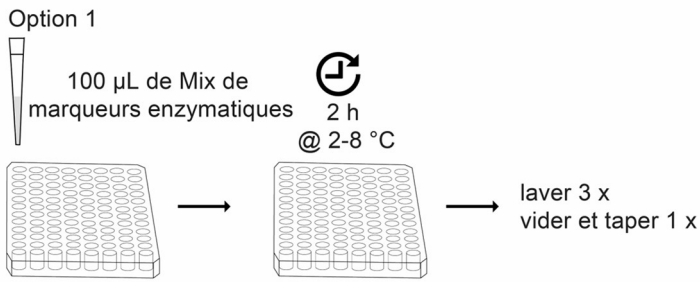
7. Ajouter 100 µL de Mix dans chaque puits.

### Pour l'option 2 : Détection des isotypes IgG ou IgM

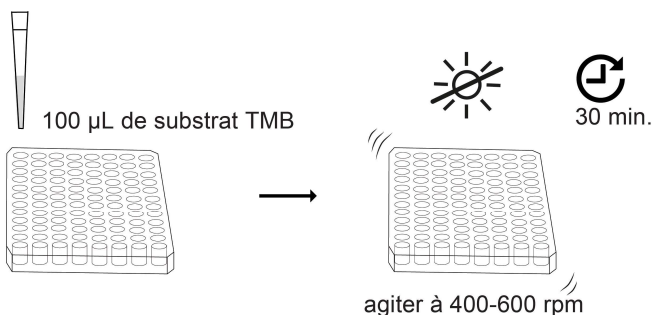
7'. Ajouter 100 µL du marqueur enzymatique IgG ou du marqueur enzymatique IgM aux puits correspondants (consulter la figure 1B).

8. Recouvrir la plaque d'un film adhésif et incuber pendant 2 heures (± 5 min) à 2-8 °C (ne pas secouer la plaque).

9. Retirer le film adhésif de la plaque. Vider les puits et les laver trois fois avec au minimum 300 µL de tampon de lavage froid(!) (2-8 °C) par puits. Vider les puits et taper fermement la plaque sur le papier absorbant.



- Ajouter 100 µL de solution de substrat TMB (équilibré à température ambiante) dans chaque puits.
- Recouvrir la plaque d'un film adhésif, protéger la plaque de la lumière et incuber sur un agitateur de plaque réglé à 400-600 rpm, à 18-28 °C pendant 30 ± 2 minutes.



- Ajouter 100 µL de solution stop dans chaque puits. Retirer les bulles d'air avec une pointe de pipette. Passer à l'étape 13 dans les 30 minutes qui suivent.
- Lire l'absorbance à 450 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.



## CONTRÔLE DE QUALITÉ

Une compréhension approfondie de ces instructions d'utilisation est nécessaire pour une utilisation réussie du produit. Des résultats fiables ne seront obtenus qu'en utilisant des techniques de laboratoire précises et en suivant scrupuleusement ces instructions d'utilisation. Le test BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA inclut trois contrôles : négatif, bas et moyen. Les valeurs des contrôles

sont comprises dans des gammes de valeurs (% Ratio) qui sont indiquées sur la fiche de contrôle qualité fournie dans chaque coffret. Les mesures des contrôles doivent être comprises dans les gammes de valeurs indiquées pour obtenir des résultats valides.

En plus des contrôles fournis dans le coffret, une utilisation de pools de sérum comme contrôle de qualité interne est recommandée.

Une valeur minimale de DO<sub>450nm</sub> de 1,2 est recommandée pour le calibrateur.

Les caractéristiques de performances doivent être comprises dans les limites établies. Si les performances du dosage ne répondent pas aux limites établies et que la répétition a exclu les erreurs liées aux manipulations techniques, vérifier les points suivants : i) contrôle de la température (réactifs utilisés dans les étapes 3 à 9 conservés à 2-8 °C) ; ii) précision des thermomètres, des dispositifs de pipetage et de chronométrage ; iii) paramètres du lecteur ELISA ; iv) dates de péremption des réactifs ; v) conditions de stockage et d'incubation ; vi) couleur de la solution de substrat TMB (doit être incolore) ; vii) pureté de l'eau ; viii) méthodes d'aspiration et de lavage.

## STANDARDISATION ET TRAÇABILITÉ METROLOGIQUE

Il n'existe pas de substances de référence ou de procédures de mesure de référence reconnues au niveau national ou international pour les anticorps anti-ganglioside dans les échantillons de sérum. Le test BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA est normalisé par rapport à un matériel de référence établi en interne. Les valeurs du calibrateur sont attribuées selon un protocole de transfert de valeur (réf. 1) pour garantir la traçabilité métrologique, et sont indiquées en unités arbitraires de « ratio en % ».

L'intervalle de confiance à 95 % de l'incertitude combinée des calibrateurs a été déterminé comme étant de 29,3 % pour les anticorps IgG et de 37,6 % pour les anticorps IgM.

## CALCUL DES RÉSULTATS DU TEST

- Mesurer l'absorbance (DO) à 450 nm pour chaque puits (calibrateur, contrôles et échantillons).
- Si plusieurs mesures de calibrateur et de contrôles ont été effectuées, calculer la moyenne des valeurs.

Les résultats sont exprimés sous la forme du ratio de l'absorbance des échantillons et de l'absorbance (moyennée) du calibrateur.

### Mix d'isotypes

$$\text{Ratio en \%} = \frac{\text{absorbance des échantillons ou des contrôles}}{\text{absorbance du calibrateur}} \times 200$$

### Isotypes IgG et IgM

$$\text{Ratio en \%} = \frac{\text{absorbance des échantillons ou des contrôles}}{\text{absorbance du calibrateur}} \times 100$$

Des programmes de calcul des résultats en Ratio en % sont disponibles sur la plupart des lecteurs de microplaques.

*Remarque : Les résultats présentés dans les tableaux 5 et 6 sont des exemples qui sont uniquement fournis à titre de démonstration.*

## LIMITES

- Les résultats de ratio en % élevés (> 100 %) pour des gangliosides individuels peuvent résulter d'une réactivité croisée avec d'autres gangliosides dans le même échantillon. La réactivité croisée présente typiquement une variation inter-dosage élevée. L'interprétation des résultats doit donc impérativement être réalisée en présence d'un expert/spécialiste.
- Du fait de la polyréactivité des anticorps auto-immuns et des différences de prévalence géographique, les résultats des dosages doivent uniquement être utilisés pour étayer l'interprétation clinique de la neuropathie par un expert/spécialiste en combinaison avec le tableau clinique du patient (réf. 2).
- Ce test n'a pas été validé pour la plasmaphérèse.
- Les immunoglobulines intraveineuses (IVIg) peuvent affecter les résultats du test.

## INTERVALLES DE RÉFÉRENCE ET VALEUR SEUIL

L'intervalle de référence du test BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA a été établi selon la ligne directrice C28-A3 du CLSI avec 120 échantillons sériques d'individus s'auto-déclarant sains. La fréquence de distribution des anticorps anti-ganglioside chez les donneurs sains de sang a été classée dans les catégories de titre : négatif (ratio < 30 %), zone grise (ratio 30-50 %) et positif (ratio > 50 %). Les résultats sont résumés dans le tableau 7. La valeur seuil de positivité correspond à un ratio de 50 %.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Antigène	IgG/IgM Mix IgG IgM		
	Valeurs (ratio en %)		
	< 30	30-50	> 50
GD1b	Négatif	Retester ultérieurement	Positif
GQ1b			
GM1			

Tableau 3

Les résultats des tests doivent être interprétés en conjonction avec les informations issues de l'évaluation clinique du patient et des autres procédures diagnostiques.

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

### Précision intra-laboratoire: 5,7 – 13,2 % CV

La précision intra-laboratoire a été établie selon la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude standardisé de 20 jours x 2 séries x 2 réplicats. Trois (3) pools d'échantillons de sérums de patients ont été testés. Les résultats sont résumés dans le tableau 8.

### Reproductibilité: 7,7 – 19,1 % CV

La reproductibilité a été établie selon la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude 3 instruments/lots/opérateurs x 5 jours x 5 réplicats. Trois (3) pools d'échantillons de sérums de patients ont été testés. Les résultats sont résumés dans le tableau 9.

## Limite de blanc (LoB) ≤ Limite de détection (LoD) : ≤ ratio de 30 %

La LoB et la LoD ont été établies selon la ligne directrice EP17-A2 du CLSI en utilisant une analyse non paramétrique. Les résultats sont résumés dans le tableau 10.

### « Effet crochet » à dose élevée

Aucune limite liée à un effet crochet à dose élevée sur la gamme de mesure n'a été observée.

### Réactivité croisée

Aucune réactivité croisée systématique n'a été observée pour les échantillons provenant de patients atteints de différentes maladies auto-immunes (tableau 11) et de patients souffrant d'autres troubles neurologiques (tableau 12).

## PERFORMANCES CLINIQUES

Les performances cliniques ont été évaluées grâce à une analyse descriptive de la littérature scientifique revue par des pairs. Cinq (5) études se sont intéressées aux performances cliniques du test BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA dans le diagnostic de neuropathies périphériques auto-immunes (réf. 3-7). Les résultats de l'analyse et les détails des études sont fournis dans le tableau 4 et le tableau 13, respectivement.

N de neuropathies périphériques	160 (102 GBS pédiatriques, 14 CIDP, 44 GBS)
N contrôles	375 (104 CM, 142 CN, 129 CS)
Sensibilité, moyenne (IC à 95 %)	57,0 % (38,6 - 75,4 %)
Spécificité, moyenne (IC à 95 %)	79,8 % (66,8 - 93,2 %)

Tableau 4

GBS, syndrome de Guillain-Barré ; CM, contrôle maladie non neurologique ; CN, contrôle neurologique ; CS, contrôle sain ; CIDP, polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique ; IC, intervalle de confiance

## SUBSTANCES INTERFÉRENTES

La sensibilité du dosage aux produits pharmaceutiques oraux et injectables ainsi qu'aux substances endogènes a été évaluée selon suivant la ligne directrice EP07-A3 du CLSI. Une déviation dans les résultats ≥ ratio de ± 20 % était considérée comme une interférence.

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes jusqu'à la concentration indiquée : immunoglobuline intraveineuse (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), cladribine (273 ng/mL), interféron alpha-2a (49,5 ng/mL), gabapentine (26,7 µg/mL), ibuprofène (0,22 mg/mL), chlorambucil (1,96 µg/mL), prednisone (99 ng/mL), prednisolone (1,2 µg/mL), facteur rhumatoïde (2340 UI/mL), hémoglobine (10 mg/mL), hémolysat (10 mg/mL), triglycéride (15 mg/mL), bilirubine conjuguée (20 µg/mL), bilirubine non conjuguée (150 µg/mL).

## TABLEAUX ET FIGURES

### Configuration de la microplaque : Mix de marqueurs IgG/IgM

		IgG/IgM Mix													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Calibrator & Controls	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	A
	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	B
	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	C
GD1b															D
GQ1b	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	E		
GM1															F
GD1b															G
GQ1b	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	H		
GM1															

24 sera IgG/ IgM Mix

Figure 1A : ≤ 24 sérums / kit (1 MP / kit)

### Configuration de la microplaque : Marqueurs IgG et IgM

		IgG						IgM							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Calibrator & Controls	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	CAL	CTRL	A
	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	B
	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	Med	Neg	C
GD1b															D
GQ1b	1	3	5	7	9	11	1	3	5	7	9	11	E		
GM1															F
GD1b															G
GQ1b	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12	H		
GM1															

12 sera IgG

12 sera IgM

Figure 1B : 2 profils / sérum, ≤ 12 sérums / kit (1 MP / kit)

### Exemple de résultats

#### A Mix de marqueurs IgG/IgM

B-GCO-ELGM	Absorbance (OD450)	Ratio [%]
Calibrateur	1,415	
Moy. calibrateurs	1,445	200
Contrôle moyen	0,498	69
Moy. contrôles moyens	0,482	67
Contrôle bas	0,195	27
Moy. contrôles bas	0,191	26
Moy. contrôles bas	0,193	27
Contrôle négatif	0,090	12
Moy. contrôles négatifs	0,100	14
Moy. contrôles négatifs	0,095	13
Échantillon 1 GM1	0,544	76
Échantillon 1 GD1b	0,745	104
Échantillon 1 GQ1b	0,090	13

Tableau 5

### B Marqueurs IgG et IgM

Marqueur enzymatique	Absorbance (DO450)		Ratio [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Calibrateur	1,789	2,576		
Moy. calibrateurs	1,833	2,527		
Moy. calibrateurs	1,836	2,551	100	100
Contrôle moyen	1,267	1,743	69	68
Moy. contrôles moyens	1,237	1,764	67	69
Moy. contrôles moyens	1,252	1,753	68	69
Contrôle bas	0,567	0,938	30	37
Moy. contrôles bas	0,584	0,942	32	37
Moy. contrôles bas	0,571	0,940	31	37
Contrôle négatif	0,061	0,098	3	4
Moy. contrôles négatifs	0,051	0,095	3	4
Moy. contrôles négatifs	0,056	0,097	3	4
Échantillon 1 GM1	0,171	3,814	9	150
Échantillon 1 GD1b	1,021	0,354	56	14
Échantillon 1 GQ1b	0,378	0,208	21	8

Tableau 6

### Intervalle de référence

Analyte	% de donneurs de sang normaux dans les catégories			Limite de référence (IC 90 %)
	Ratio < 30 %	Ratio 30 - 50 %	Ratio > 50 %	
IgG anti-GM1	99,2	0,8	0,0	16 (13,0 – 29,8)
IgM anti-GM1	95,8	3,3	0,8	24 (14,3 – 40,3)
IgG/ IgM anti-GM1	95,0	4,2	0,8	34 (23,3 – 49,5)
IgG anti-GD1b	97,5	1,7	0,8	21 (14,5 – 33,0)
IgM anti-GD1b	99,2	0,0	0,8	15 (6,3 – 15,5) <sup>F</sup> 9 (6,4 – 54,7) <sup>M</sup>
IgG / IgM anti-GD1b	95,0	3,3	1,7	30 (22,3 – 71,6)
IgG anti-GQ1b	97,5	2,5	0,0	24 (14,6 – 33,4)
IgM anti-GQ1b	99,2	0,8	0,0	8 (6,2 – 17,8)
IgG / IgM anti-GQ1b	95,0	4,2	0,8	31 (23,1 – 46,7)

F sous-groupe femmes. M sous-groupe hommes

Tableau 7

## TABLEAUX ET FIGURES

### Précision intra-laboratoire

Description des échantillons			Précision intra-laboratoire			
Analyte	Marqueur enzymatique (isotype)	Catégorie attendue [Ratio en %]	N	Moyenne [Ratio en %]	Écart-type [Ratio en %]	CV [%]
Ac anti-GM1	IgM	30-50	80	48	3,5	7,2
		> 50	80	91	6,2	6,8
	IgG	30-50	80	40	5,1	12,9
		> 50	80	106	13,1	12,4
Ac anti-GQ1b	IgM	30-50	80	45	2,6	5,7
		> 50	80	85	6,7	7,8
	IgG	30-50	80	43	5,7	13,2
		> 50	80	80	6,9	8,6

Tableau 8

### Reproductibilité

Description des échantillons			Reproductibilité			
Analyte	Marqueur enzymatique (isotype)	Catégorie attendue [Ratio en %]	N	Moyenne [Ratio en %]	Écart-type [Ratio en %]	CV [%]
Ac anti-GM1	IgM	30-50	75	51	4,9	9,7
		> 50	75	94	7,2	7,7
	IgG	30-50	75	39	5,6	14,5
		> 50	75	106	17,1	16,1
Ac anti-GQ1b	IgM	30-50	75	48	3,9	8,2
		> 50	75	92	9,9	10,7
	IgG	30-50	75	42	8,1	19,1
		> 50	75	78	12,0	15,4

Tableau 9

### LoD et LoB

Analyte	LoB [Ratio en %]	LoD [Ratio en %]
Ac IgM anti-GM1	5	21
Ac IgG anti-GM1	6	15
Ac IgM anti-GQ1b	3	16
Ac IgG anti-GQ1b	8	18

Tableau 10

### Réactivité croisée

Anticorps attribué	Diagnostic	#
Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA)	Vascularite	3
	Autres (échantillons désignés positifs à ANCA)	10
Anticorps anti-nucléaires (ANA)	Lupus érythémateux disséminé	5
	Polyarthrite rhumatoïde	9
	Syndrome de Sjögren	6
	Autres (échantillons désignés positifs à ANA)	3
Anticorps anti-thyroglobuline (anti-Tg)	Thyroïdite auto-immune	5
Anticorps anti-ribonucléoprotéine	Connectivite mixte	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Neuropathies périphériques auto-immunes	1
Anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine et anti-tyrosine kinase spécifique de muscle	Myasthénie auto-immune	7

Tableau 11

Neuropathies périphériques	#
Alcoolique	1
Diabétique	5
Troubles imitant les neuropathies périphériques	#
Sclérose latérale amyotrophique (SLA)	15
Sarcoïdose	4
Macroglobulinémie de Waldenström (MW)	4
Maladie de Chagas	5

Tableau 12

### Performances cliniques

Étude	Contrôles positifs (cas)	Contrôles négatifs	Épitope	Sensibilité	Spécificité
Hashemilar et al., 2014	GBS pédiatrique (n = 45)	CM (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	GBS pédiatrique (n = 57)	CN (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		CM (n = 35)			0,83
Khandelwal et al., 2006	GBS (n = 13)	CS (n = 19)	GM1	0,31	0,74
Uetz-von Allmen et al., 1998	GBS, CIDP (n = 19, 14)	CN (n = 100)	GM1	0,30	0,93
		CS (n = 110)			0,95
Spatola et al., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	CM (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97

Tableau 13

GBS, syndrome de Guillain-Barré ; CM, contrôle maladie non neurologique ; CN, contrôle neurologique ; CS, contrôle sain ; MFS, syndrome de Miller-Fisher ; CIDP, polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique

## MODE OPÉRATOIRE SIMPLIFIÉ

Important : Le mode opératoire simplifié ne saurait remplacer les informations détaillées décrites dans les présentes instructions d'utilisation.

### Avant le jour du test

#### Préparation du tampon de lavage

Diluer le tampon de lavage concentré  
au 1/10e avec de l'eau déionisée

*Recommandation : Préparer le  
tampon de lavage le jour qui précède  
la réalisation du dosage et le placer au  
réfrigérateur pendant une nuit.*

### Jour du test

#### Préparation des échantillons/contrôles/calibrateurs

Diluer les échantillons de sérum au 1/50e  
avec du tampon d'incubation (froid !) et  
mélanger complètement au vortex

Reconstituer les contrôles et le  
calibrateur en ajoutant 1,5 mL de  
tampon d'incubation

*laisser 30 minutes à 2-8 °C*

#### BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA

Microplaque pré-coatée

*laver 2 x avec  $\geq 300 \mu\text{L}$  tampon de lavage (froid !)*

100  $\mu\text{L}$  de calibrateur, de contrôles ou  
d'échantillons de sérum (1/50e)

*incuber 2 heures ( $\pm 5$  min) à 2-8 °C*

*laver 3 x avec  $\geq 300 \mu\text{L}$  tampon de lavage (froid !)*

ajouter 100  $\mu\text{L}$  de marqueur(s) enzymatique(s)

*incuber 2 heures ( $\pm 5$  min) à 2-8 °C*

*laver 3 x avec  $\geq 300 \mu\text{L}$  tampon de lavage (froid !)*

ajouter 100  $\mu\text{L}$  de substrat TMB (température ambiante)

*incuber 30 min ( $\pm 2$  min) à 18-28 °C  
sur un agitateur de plaque ~400-600 rpm*

ajouter 100  $\mu\text{L}$  de solution stop (température ambiante)

→ Lire l'absorbance à 450 nm (dans les 30 minutes)

**TEMPS D'OBTENTION DU RÉSULTAT: 5 HEURES**

---

## RÉFÉRENCES

1. Blirup-Jensen, S., Johnson, A. M. & Larsen, M. Protein standardization V: Value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material. *Clin. Chem. Lab. Med.* 46, 1470–1479 (2008).
2. Bourque, P. R. et al. Autoimmune peripheral neuropathies. *Clinica Chimica Acta* 449, 37–42 (2015).
3. Hashemilar, M. et al. Evaluating the status of antiganglioside antibodies in children with Guillain-Barré syndrome. *Neuroimmunomodulation* 21, 64–68 (2013).
4. Sharma, M. B. et al. The presence of Mycoplasma pneumoniae infection and GM1 ganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome. *J. Infect. Dev. Ctries.* 5, 459–464 (2011).
5. Uetz-von Allmen, E. et al. Antiganglioside GM1 antibodies and their complement activating capacity in central and peripheral nervous system disorders and in controls. *Eur. Neurol.* 39, 103–110 (1998).
6. Spatola, M., Du Pasquier, R., Schluep, M. & Regeniter, A. Serum and CSF GQ1b antibodies in isolated ophthalmologic syndromes. *Neurology* 86, 1780–1784 (2016).
7. Khandelwal, D. et al. IgM anti-GM1 antibody titers in patients with monomelic amyotrophy. *Neurol. India* 54, 399–401 (2006).

---

## JOURNAL DES MODIFICATIONS

Date	Version	Modification
2026-05-04	A2	Précision dans le chapitre <i>Utilisation prévue</i> par ajout d'informations concernant l'automatisation des tests, la population testée et l'utilisateur prévu. Révision des chapitres <i>Mode opératoire simplifié</i> et <i>Symboles</i> . Mise à jour des chapitres <i>Avertissements et précautions</i> (sous-chapitre <i>Précautions de sécurité</i> ), <i>Prélèvement et conservation des échantillons</i> et <i>Tableaux et figures</i> . Mise à jour du symbole eIFU sur la première page (ne s'applique qu'à la version en anglais du document).

---

## RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

---

## DOMMAGES PENDANT L'EXPEDITION

Veuillez notifier votre distributeur si vous avez reçu un produit endommagé.

## SYMBOLES

BÜHLMANN utilise des symboles et des signes énumérés et décrits dans l'ISO 15223-1.

Pour la définition des symboles, voir le glossaire disponible à l'adresse suivante : [www.buhmannlabs.ch/support/downloads/](http://www.buhmannlabs.ch/support/downloads/)

En outre, les symboles et signes suivants sont utilisés:

Symbole	Description
MP	Microplaque
BUF WASH 10X	Tampon de lavage concentré (10x)
BUF INC	Tampon d'incubation
CAL	Calibrateur
CONTROL -	Contrôle négatif
CONTROL L	Contrôle bas
CONTROL M	Contrôle moyen
EL IgG	Marqueur enzymatique IgG
EL IgM	Marqueur enzymatique IgM
EL MIX	Marqueur enzymatique Mix IgG/IgM
SUBS TMB	Substrat TMB
SOLN STOP	Solution stop

