1. **Principe**

Le test indirect de Donath-Landsteiner dépiste l’hémolyse bithermique propre à l’hémoglobinurie paroxysmale froide (HPC).

L’anticorps suscite une hémolyse seulement s’il a l’occasion d’agir d’abord à température très froide, puis à une température plus élevée (hémolysine bithermique). Il s’agit d’un anticorps non agglutinant qui réagit presque exclusivement aux globules rouges P+; c’est habituellement un état transitoire secondaire à une infection virale (en particulier chez l’enfant). Il peut aussi se manifester comme état chronique idiopathique chez le patient plus âgé.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Le sérum normal frais (SNF) utilisé dans cette procédure DOIT être très frais (prélevé depuis moins de 4 heures) puisqu’il sert de source de complément.
2. **Échantillons**

Sérum séparé d’un échantillon de sang fraîchement prélevé et maintenu à 37ºC.

1. **Matériel**

**Équipement :**  bain-marie / bloc chauffant à 37ºC

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques  
 bain de glace

**Réactifs** : solution saline

sérum frais de groupe compatible (prélevé depuis moins de 4 heures et exempt d’anticorps inattendus)

environ 10 gouttes de suspension saline à 50 % de globules rouges normaux du groupe O exprimant l’antigène P (lavés deux fois et mis en suspension dans une solution saline à 0,9 %)

1. **Contrôle de la qualité - S.O.**
2. **Procédure**
   1. Étiqueter trois ensembles de 3 tubes de 10 x 75 mm comme suit :   
      A1-A2-A3; B1-B2-B3; C1-C2-C3. Consulter le tableau ci-dessous.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ensemble A | Ensemble B | Ensemble C |
| A1 - sérum du patient et cellules P+ | B1 - sérum du patient et cellules P+ | C1 - sérum du patient et cellules P+ |
| A2 – sérum du patient et SNF et cellules P+ | B2 - sérum du patient et SNF et cellules P+ | C2 - sérum du patient et SNF et cellules P+ |
| A3 - SNF et cellules P+ | B3- SNF et cellules P+ | C3- SNF et cellules P+ |
| Glace pendant 30 min, 37 oC pendant 1 h | Glace pendant 90 min | 37 oC pendant 90 min |

* 1. Aux tubes 1 et 2 de chaque ensemble, ajouter 10 volumes (p. ex. gouttes) du sérum du patient.
  2. Aux tubes 2 et 3 de chaque ensemble, ajouter 10 volumes de sérum normal frais.
  3. À tous les tubes, ajouter un volume de la suspension à 50 % de globules rouges lavés P positifs et bien mélanger.
  4. Placer les trois tubes « A » dans un bain de glace fondante pendant 30 minutes, puis à 37ºC pendant 1 heure.
  5. Placer les trois tubes « B » dans un bain de glace fondante et les maintenir dans la glace fondante pendant 90 minutes.
  6. Placer les trois tubes « C » à 37ºC et les maintenir à cette température pendant 90 minutes.
  7. Centrifuger tous les tubes à 3500 rpm pendant 10 à 15 secondes et examiner le surnageant à la recherche d’hémolyse. Inscrire les résultats.

1. **Documentation**

7.1 On considère que le test de Donath-Landsteiner est positif quand le sérum du patient, avec ou sans complément ajouté, suscite une hémolyse dans les tubes qui ont d’abord été incubés dans la glace fondante puis à 37ºC (c.-à-d. les tubes A1, A2), et qu’il n’y a aucune hémolyse dans les tubes gardés tout au long à 37ºC (c.-à-d. les tubes C1, C2) ou dans la glace fondante (c.-à-d. les tubes B1, B2). Les tubes A3, B3 et C3 servent de témoin à l’activité du complément et ne devraient révéler aucune hémolyse.

* 1. Avertir par téléphone le médecin de tout résultat positif.

1. **Remarques** 
   1. Cette procédure sera effectuée à la demande du médecin traitant.
   2. Cette procédure est appropriée si le patient a eu un résultat positif à un test de Coombs direct en raison d’un complément (C3) et qu’il manifeste des signes d’hémoglobinémie ou d’hémoglobinurie9.1.
2. **Références**
   1. Roback, JD. éd. AABB Technical Manual, 17e éd. Bethesda MD: American Association of Blood Banks, 2011: 928.
3. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2014 | * Changement du nom du manuel * Ajout de « bain de glace » à la section 4.0 Équipement * Précision du temps et de la vitesse de rotation en 6.8. * Déplacement de 8.2 à 7.2. * Ajout de la section 8.2 * Mise à jour des références |