

Séance plénière

Impact clinique de la durée de conservation des globules rouges avant transfusion

Clinical impact of length of storage before red blood cell transfusion

J. Lacroix*, M. Tucci

Service des soins intensifs pédiatriques, département de pédiatrie, université de Montréal, CHU Sainte-Justine, 3175, côte Sainte-Catherine, Montréal, Québec, H3T 1C5, Canada

Disponible sur Internet le 3 avril 2011

Résumé

Les experts ont décidé au cours des années 1940 qu'un concentré érythrocytaire pouvait être conservé aussi longtemps que l'hémolyse moyenne était inférieure à 1 % et que le pourcentage des globules rouges survivants chez un receveur 24 heures après une transfusion dépassait 70 %. Actuellement, en France comme au Canada, un concentré érythrocytaire peut être utilisé jusqu'à 42 jours après le prélèvement sanguin. Cependant, la durée maximale de conservation n'a jamais été déterminée en se basant sur des critères cliniques pertinents. Or, des données récentes laissent entendre que l'administration de concentrés érythrocytaires entreposés depuis plus longtemps pourrait être moins avantageuse et pourrait même être carrément dangereuse pour certains patients transfusés, surtout s'ils se trouvent dans un service de réanimation ou encore s'ils sont gravement malades. L'article qui suit résume les données publiées sur la question, commente ces données et donne un aperçu des principales études en cours visant à vérifier si du sang frais est meilleur que du sang vieux pour les patients transfusés.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Conservation ; Érythrocytes ; Globules rouges ; Immunomodulation ; Lésions d'entreposage ; Revue ; Sort des patients ; Transfusion

Abstract

Presently, red blood cell units are stored up to 42 days in France and Canada. Length of storage of red blood cell units is not based on clinical outcomes: it is rather based on a decision made by some experts in the 1940s that red blood cell units can be stored as long as the average hemolysis is lower than 1% and the proportion of red blood cells still alive 24 hours post-transfusion is higher than 70%. Data reported recently suggest that transfusion with older red blood cell units may jeopardize the outcome of severely ill patients. In this paper, we comment the data already published on this question, and we summarize the randomized clinical trials presently on-going that were undertaken to address the relationship between length of storage of red blood cell units and outcomes of transfused patients.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Erythrocytes; Immunomodulation; Outcome; Red blood cells; Review; Storage lesions; Transfusion

1. Introduction

En 1916, Rous et Turner ont démontré qu'il est possible de conserver du sang dans une glacière pendant quelques semaines si le sang en question est mélangé à une solution nutritive contenant du dextrose et du citrate [1]. Deux ans plus tard, Robertson a transfusé 20 combattants avec du sang conservé de la sorte ; il écrivit dans son article que la technique utili-

sée pour transfuser du sang est simple et peut facilement être réalisée par un officier militaire médical [2]. Actuellement, les concentrés érythrocytaires sont conservés à une température de 1 à 8 °C [3]. Ils contiennent une solution nutritive de conservation (*preservative solution*) à laquelle une solution additionnelle est ajoutée (*additive solution*). De meilleures solutions nutritives et additionnelles ont permis d'allonger notablement la durée de conservation : celle-ci atteint 42 jours en France et au Canada en 2011.

Les critères sur lesquels se basent les organismes dispensateurs de produits sanguins pour déterminer la durée maximale

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : jacques.lacroix@ssss.gouv.qc.ca (J. Lacroix).

d'entreposage des culots globulaires ont été déterminés par quelques experts en 1942 [4]. Actuellement, la situation est considérée comme satisfaisante si l'hémolyse moyenne dans un concentré érythrocytaire est inférieure à 1 % (0,8 % en Europe) et si le pourcentage de globules rouges survivants chez un receveur de ce produit dépasse 75 % au moins 24 heures après la transfusion [5]. Ce qui étonne, c'est que la durée maximale de conservation n'a jamais été déterminée en se basant sur des critères plus pertinents comme les transformations biologiques, biochimiques ou immunitaires observées dans les culots entreposés ou encore l'utilité clinique du produit transfusé. Autrement dit, personne n'a vérifié si la transfusion de concentré érythrocytaire entreposé plus longtemps est cliniquement utile et sécuritaire pour les patients qui les reçoivent. Or, plusieurs données publiées au cours des 20 dernières années laissent entendre que les produits sanguins conservés plus longtemps pourraient ne pas être aussi inoffensifs qu'on le pensait.

Dans le présent article, nous décrivons les lésions de vieillissement et d'entreposage des concentrés érythrocytaires, nous discuterons de l'impact clinique possible de ces lésions et nous décrivons les grands essais cliniques multicentriques en cours portant sur cette question.

Une grande part des données cliniques présentées dans cette conférence provient d'études réalisées en réanimation. Cela est d'abord justifié par le fait que la littérature provenant des soins intensifs sur l'impact clinique lié à des lésions d'entreposage est particulièrement riche. Au moins 50 % des patients traités en réanimation reçoivent une transfusion [6,7]. De plus, les patients en réanimation sont particulièrement susceptibles de présenter une réaction défavorable aux lésions d'entreposage : cela est probablement dû au syndrome de réponse inflammatoire systémique que ces patients présentent presque tous [8,9], ce qui les rend plus susceptibles de présenter une réponse défavorable aux lésions d'entreposage associées aux transfusions, comme un syndrome de défaillance multiviscérale ou un décès [10,11]. Cserti-Gazdewich a comparé les patients traités en réanimation aux canaris utilisés dans les mines de charbon pour pressentir les coups de grisou, car les chances de détecter les effets nocifs d'une transfusion sont plus grandes chez ces patients [12]. La démonstration de l'effet nocif d'une transfusion chez de tels patients ne signifie pas que le même effet serait observé chez des patients moins malades ; les données en question ne pourraient donc s'appliquer que chez des patients semblables. En revanche, une transfusion sécuritaire chez des patients aussi malades que ceux traités en réanimation devrait l'être aussi pour des patients moins malades. Les patients en réanimation sont donc particulièrement intéressants comme sujets d'étude lorsqu'il s'agit d'évaluer l'impact clinique que pourrait avoir la transfusion de concentrés érythrocytaires conservés plus longtemps.

2. Durée de conservation : qu'en est-il dans la pratique ?

La politique standard des banques de sang est de délivrer le concentré érythrocytaire le plus vieux lorsqu'une transfusion est prescrite afin de minimiser la perte de produits sanguins. Cette politique s'applique à tous les patients, à l'exception dans certains milieux de cas de chirurgie cardiaque, d'enfants préma-

turés et, en France, d'enfants traités en réanimation et âgés de moins de trois ans. Le fait est que les concentrés érythrocytaires administrés aux adultes et aux enfants traités en réanimation ont une durée de conservation assez longue. Corwin et al. ont rapporté leur expérience avec 4892 adultes traités en soins intensifs : l'âge moyen des concentrés érythrocytaires transfusés chez ces patients était de 21 jours [6]. Zallen et al. ont rapporté un âge moyen de 28 jours dans un centre de trauma de Denver [13]. Spinella et al. ont rapporté un âge moyen de 33 jours dans un hôpital militaire [14]. L'âge moyen des concentrés érythrocytaires administrés dans les services de réanimation de la Franche-Comté en 2010 était de 17 à 21 jours. Deux études faites dans des soins intensifs pédiatriques nord-américains ont rapporté une durée de conservation moyenne de 14 jours et 16 jours [7,11]. La durée de conservation des concentrés érythrocytaires administrés en soins intensifs est donc assez longue.

La durée de conservation varie non seulement selon l'endroit et le type de malades, mais aussi en fonction des groupes sanguins [15]. Cette variation tient probablement au fait que les groupes les plus rares sont les moins souvent demandés, d'où une durée de conservation plus longue pour les groupes sanguins moins communs.

3. Vieillesse et lésions d'entreposage

3.1. Définitions

Le vieillissement et les lésions d'entreposage sont le lot de tous les concentrés érythrocytaires. La durée de vie moyenne des globules rouges est de 120 jours et l'on s'attend à ce qu'ils vieillissent pendant qu'on les entrepose ; toutefois, les érythrocytes vieillissent moins rapidement pendant l'entreposage qu'in vivo. Les lésions d'entreposage des concentrés érythrocytaires comprennent des changements métaboliques, biochimiques et moléculaires qui apparaissent au cours du temps dans le surnageant, les globules blancs et les globules rouges. Le vieillissement est un processus normal alors que les lésions d'entreposage sont un processus anormal.

3.2. Surnageant

La concentration de potassium et de sodium dans le surnageant varie considérablement pendant la conservation. Au départ, la concentration en potassium est d'environ 4 mmol/L ; elle peut s'élever jusqu'à 50 mmol/L au bout de 42 jours [16]. Pendant ce temps, la concentration de sodium passe d'environ 140 à 100 mmol/L. L'augmentation du potassium est en partie attribuable au potassium libéré par les globules rouges qui s'hémolysent avec le temps. Cependant, la plus grande partie de l'augmentation du potassium et de la diminution du sodium qui l'accompagne sont probablement dues à la dysfonction d'une protéine de transport membranaire des globules rouges responsable d'échanger ces deux ions.

Le pH des concentrés érythrocytaires passe de 7,4 à environ 6,9 en moins de trois heures. Par la suite, il continue de chuter jusqu'aux environs de 6,6 au bout de six semaines [17]. Pendant ce temps, la PCO₂ augmente progressivement, tout comme le

lactate qui passe de 6 à 44,7 mmol/L du premier au 35^e jour de conservation [18,19].

Au cours des années 1990, une augmentation progressive de la concentration de nombreux produits pro- et anti-inflammatoires dans le surnageant de culots globulaires a été rapportée. La concentration de cytokines augmente effectivement de façon importante dans les culots qui n'ont pas été déleucocytés avant d'être entreposés [20], mais cette augmentation n'est pas observée dans le cas contraire [17,21–24]. C'est ainsi que Wada et al. ont décrit une augmentation importante de l'interleukin 8 et du TGF- β au cours de la conservation de culots non déleucocytés, alors que les deux molécules en question restent quasiment indétectables dans les concentrés déleucocytés avant conservation [25]. De même, Cardo et Wilder ont démontré qu'une déleucocytation lors du prélèvement prévient l'accumulation de facteurs activant les plaquettes (*platelet activating factor*) qui s'accumulent de plus en plus sur la surface des érythrocytes au cours de la conservation de concentrés non déleucocytés [26]. Ces observations ont permis d'espérer que les effets pro-inflammatoires des concentrés érythrocytaires plus vieux soient abolis par la déleucocytation. Ils sont effectivement diminués, mais ils ne disparaissent pas complètement. On s'est aperçu que les érythrocytes contenus dans un concentré déleucocyté perdent leur protection contre les radicaux libres (glutathion, superoxyde dismutase, etc.) pendant la conservation [27]; or, de tels radicaux libres peuvent faire s'accumuler des lipides biologiquement actifs, comme le *lysophospholipid platelet activating factor* [28]. Plusieurs autres changements d'ordre immunitaire ont été mis en évidence dans les concentrés érythrocytaires, comme l'augmentation de phospholipase A2, des « *advanced glycation end-products* » et de phosphatidyl-sérine [18,29,30]. Ces molécules ont des propriétés immunomodulatrices qui pourraient expliquer les observations faites par Karam et al. [16]. Ces chercheurs ont démontré qu'une déleucocytation pré-conservation réduit effectivement l'activité immunomodulatrice de vieux concentrés; cependant, le surnageant de tels concentrés conserve une activité pro-inflammatoire, car des cytokines étaient produites quand on exposait un culot frais au surnageant d'un culot longuement entreposé, même si ce dernier avait été déleucocyté avant entreposage. Par ailleurs, Hod et al. ont démontré à l'aide d'un modèle murin que la transfusion d'un culot globulaire, même lavé, est pro-inflammatoire et fait augmenter la concentration de fer non lié à la transferrine et les dépôts intratissulaires de fer: la concentration totale de fer était respectivement de 160 et de 295 $\mu\text{g/dL}$ deux heures après la transfusion de sang frais ou entreposé [31]. C'étaient donc les globules rouges et non le surnageant qui était en cause.

3.3. Globules rouges

Les globules rouges eux-mêmes acquièrent de nombreuses anomalies pendant leur conservation.

L'activité en 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) des érythrocytes disparaît complètement après deux semaines de conservation [17]. Il en résulte un déplacement vers la gauche de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine, une saturation artérielle

plus élevée pour une même PaO_2 et un transport en oxygène plus élevé; en revanche, l'oxygène est relâché plus difficilement vers les tissus, ce qui augmente le risque de dysoxie cellulaire. Cette anomalie est probablement sans importance si le problème à traiter est chronique puisque la concentration en 2,3-DPG est rétablie à 50 % moins de sept heures après la transfusion [32].

De nombreuses autres anomalies des globules rouges sont observées: lyse d'érythrocytes, peroxydation de leur membrane cellulaire, chute du niveau d'ATP, perte de leur capacité à se déformer, augmentation de leur adhérence et de leur agrégation et dysfonction du couplage entre l'hémoglobine intraérythrocytaire et l'oxyde nitrique. La dernière anomalie mérite un commentaire plus extensif, car elle est méconnue et elle pourrait avoir un impact important sur la microcirculation.

3.4. Transfusion et microcirculation

3.4.1. Durée de conservation et oxygénation

Une transfusion de concentrés érythrocytaires n'est pas donnée simplement pour augmenter le niveau d'hémoglobine: le but est d'augmenter le transport et de rétablir la consommation d'oxygène dans l'espoir de diminuer la morbidité et la mortalité attribuable à l'anémie. Il est vrai que toute transfusion d'érythrocytes augmente effectivement le transport en oxygène systémique. Cependant, la consommation systémique en oxygène n'augmente pas nécessairement; on peut se demander pourquoi. Plusieurs explications sont avancées. Il ne faut pas s'attendre à observer une augmentation de la consommation d'oxygène après une transfusion si la quantité d'oxygène transportée dans le sang est déjà suffisante pour répondre aux besoins du patient: une dépendance entre l'oxygène transporté et l'oxygène consommé ne peut se manifester sans déficit. De plus, les cellules de certains patients sont incapables d'utiliser l'oxygène qui leur est apporté: c'est le cas par exemple des patients en hypothermie ou en sepsis grave, car on observe une dysfonction mitochondriale chez ces patients qui les empêche de bien utiliser l'oxygène. Il est possible en outre que la consommation d'oxygène de certains organes ne s'élève pas parce que le transport régional en oxygène n'augmente pas malgré une augmentation du transport systémique en oxygène: cela peut se produire si les petits vaisseaux sanguins d'une région ou d'un organe se bouchent ou se contractent, bloquant ainsi le transport local en oxygène. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer pourquoi une transfusion de concentrés érythrocytaires n'augmente pas le transport en oxygène régional: cela pourrait être dû à un bouchon de globules rouges, causé par une incapacité des globules rouges à se déformer ou à une augmentation de leur adhérence et de leur agrégation; une vasoconstriction induite de la microcirculation pourrait aussi être en cause.

3.4.2. Bouchons de globules rouges

Le diamètre d'un globule rouge est d'environ 7,2 μm ; celui des capillaires est de 3 à 8 μm . C'est donc dire qu'un érythrocyte doit se déformer pour réussir à traverser un capillaire. Or, on observe au bout de deux à trois semaines de conservation l'apparition de globules rouges qui prennent la forme d'échinocytes; ceux-ci sont rigides et ne peuvent pas traverser

un capillaire. Y a-t-il des données démontrant que la rigidité des globules rouges pourrait causer des problèmes cliniques ? C'est effectivement le cas : la rhéologie (rigidité et agrégation) des érythrocytes des patients en sepsis est anormale ; cela est effectivement associé à un risque accru de mortalité chez ces patients [33]. Cependant, on ne sait pas si ce problème est important chez les patients qui n'ont pas de sepsis. De plus, des données récentes laissent entendre que la rhéologie des érythrocytes est conservée dans les concentrés érythrocytaires qui ont été déleucocytés avant conservation [34]. Il se pourrait donc que la rhéologie des globules rouges ne soit plus un problème si on utilise des concentrés érythrocytaires déleucocytés avant conservation.

Normalement, l'adhérence des globules rouges à l'endothélium est minime. La phosphatidyl-sérine se déplace de plus en plus vers la membrane des érythrocytes au cours de la conservation ; il en résulte une augmentation de l'adhérence et de l'agrégation des globules rouges. Cela est-il cliniquement important ? Certains le pensent [35], mais des données chez le rat démontrent qu'une leucoréduction avant conservation empêche l'apparition de cette hyperagrégabilité [36]. Il se pourrait donc que l'adhérence des globules rouges ne soit pas non plus un problème réel chez l'humain si l'on utilise des concentrés déleucocytés avant conservation.

3.4.3. Anomalies de la microcirculation

L'hémoglobine interagit non seulement avec l'oxygène, mais aussi avec plusieurs autres molécules dont l'oxyde nitrique. Cette interaction avec l'oxyde nitrique semble responsable d'une fonction méconnue des globules rouges : le contrôle localisé du tonus des petits vaisseaux sanguins [37]. En effet, les globules rouges réagissent immédiatement à une hypoxie tissulaire locale en libérant de l'oxyde nitrique lié à l'hémoglobine ; il en résulte une vasodilatation locale. À l'inverse, l'hémoglobine capte de l'oxyde nitrique circulant presque immédiatement si un tissu n'a pas besoin d'oxygène ; il en résulte une vasoconstriction locale. Cette fonction disparaît presque immédiatement après la mise en entreposage, comme le suggèrent les données de Bennett-Guero et al. qui ont rapporté une altération importante de la capacité vasodilatatrice des vaisseaux sanguins moins de trois heures après conservation [17].

Il faut en outre se rappeler qu'il y a toujours une certaine libération d'hémoglobine libre dans un concentré érythrocytaire. Cette hémoglobine libre provient de l'hémolyse qui se produit invariablement au fur et à mesure que les globules rouges vieillissent. De plus, l'hémoglobine contenue dans les microvésicules produites par les échinocytes après quelques semaines de conservation semble réagir comme de l'hémoglobine libre [38]. Or, l'hémoglobine libre fixe l'oxyde nitrique au point de causer une vasoconstriction. Une leucoréduction pré-entreposage réduit l'hémolyse de 53 % ; on ne sait pas si cela est suffisant pour changer la donne.

Il existe donc de nombreuses données obtenues *in vitro* suggérant qu'une transfusion peut altérer le débit sanguin et la consommation régionale d'oxygène. Plusieurs mécanismes pourraient être impliqués : bouchons d'érythrocytes liés à la rigidité des globules rouges, à leur adhérence et à leur agrégation, ainsi qu'une vasoconstriction liée à la fixation de l'oxyde

nitrique par l'hémoglobine intra-érythrocytaire ou libre. De plus, un taux bas de 2,3-DPG bloque la relâche d'oxygène par les érythrocytes. Tous ces mécanismes pourraient produire des problèmes locaux de distribution et d'utilisation de l'oxygène. Qu'en est-il cliniquement ?

Au moins, 14 études ont porté sur l'effet d'une transfusion sur le transport et la consommation régionale en oxygène : le transport global en oxygène était toujours augmenté après une transfusion d'érythrocytes ; en revanche, la consommation globale en oxygène n'a augmenté que cinq fois sur 14. Certaines études rapportent même une altération de la consommation d'oxygène locale [39]. Par exemple, Marik et Sibbald rapportaient en 1993 une chute du pH de la muqueuse gastrique chez des patients en sepsis après qu'ils aient reçu une transfusion de concentrés plus vieux, ce qui suggérait une hypoxie de ladite muqueuse [40]. Cependant, Walsh et al. n'ont pas observé ce phénomène lorsqu'ils ont utilisé des culots déleucocytés [41]. Kiraly et al. ont étudié trois groupes de cas de trauma [42]. Le groupe témoin comprenait 16 patients n'ayant pas reçu de transfusion ; la saturation tissulaire en oxygène est restée stable chez ces patients tout au long de leur séjour en réanimation. Le groupe « sang frais » avait reçu une transfusion de concentrés conservés depuis moins de 21 jours ; la saturation tissulaire en oxygène des 15 patients de ce groupe est restée stable. En revanche, la saturation en oxygène des 17 patients qui avaient reçu une transfusion de concentrés conservés depuis plus de 21 jours a diminué significativement.

En résumé, de nombreuses lésions d'entreposage sont observées dans les concentrés érythrocytaires. La concentration de plusieurs produits diminue, comme l'ATP, le sodium et le 2,3-DPG, alors qu'il y a augmentation de la PCO₂ et du taux de lactate, de potassium, d'hémoglobine libre, et de nombreux produits pro- et anti-inflammatoires. Certaines anomalies apparaissent subitement en quelques heures, comme l'acidose, alors que d'autres s'établissent progressivement, comme l'augmentation de la concentration en potassium. Il faut aussi retenir que la séquence des événements varie : certains changements sont immédiats, alors que d'autres apparaissent après deux, trois et même quatre semaines de conservation.

4. Problèmes de santé associés à du sang vieux

On peut donc se demander si toutes les anomalies décrites plus haut ont des conséquences cliniques. Plusieurs études descriptives publiées récemment ont étudié l'association entre la transfusion de sang plus vieux et la mortalité, le fonctionnement du système inflammatoire, le nombre d'infections nosocomiales acquises par les patients, leur durée du séjour aux soins intensifs et le risque de thrombose.

Au moins six études ont été publiées qui portaient sur l'association entre concentrés érythrocytaires plus vieux et infections nosocomiales. Trois études montraient une telle association, alors que trois autres n'en montraient pas [43–48]. Il est à noter que deux auteurs au moins se sont demandé si ce n'était pas plutôt le nombre de transfusions qui était associé à un taux plus élevé d'infections nosocomiales après une transfusion ; c'est effectivement ce qu'ils ont trouvé [46,47].

D'autres auteurs se sont intéressés à l'effet d'une transfusion de sang plus vieux sur la durée du séjour en soins intensifs. Trois des six études que nous avons trouvées montraient une telle association [46,49,50], alors que trois autres n'en montraient pas [48,51,52].

Plusieurs observations faites *in vitro* laissent entendre que le sang plus vieux pourrait prédisposer à des thromboses. Les globules rouges prennent la forme d'échinocytes après deux à trois semaines de conservation ; certaines pointes se détachent dans le surnageant et y forment des microvésicules. Celles-ci contiennent des lipides pro-inflammatoires qui se lient à l'annexine-5, ce qui facilite la production de thrombine (*transfusion induced facilitation of thrombin* ou *TRIFT effect*). Un état pro-coagulant en résulte après trois semaines de conservation, lequel pourrait en théorie augmenter le risque de thrombose [18]. De plus, la phosphatidyl-sérine qui s'accumule sur la membrane érythrocytaire active les plaquettes et leur tendance à s'agréger, ce qui pourrait prédisposer aux thromboses [35]. Deux études cliniques ont été menées. Spinella et al. ont publié une étude rétrospective comprenant 101 adultes ayant reçu du sang âgé de plus de 28 jours et 101 receveurs de sang plus jeune ; le taux de thrombose ($p=0,006$) et le taux de décès ($p=0,02$) étaient plus élevés dans le premier groupe [53]. Cependant, Katsios et al. n'ont trouvé aucune association ; cette étude prospective était de très grande qualité, car l'apparition de thrombose était surveillée par des échographies faites de façon systématique [54].

Nous avons trouvé cinq études portant sur l'association de culots globulaires plus vieux et la mortalité chez des patients non cardiaques [45,50,55–57]. Trois d'entre elles n'ont pas démontré d'association [50,56,57]. Nous avons aussi trouvé sept études portant sur la mortalité chez des cas cardiaques [48,58–63] ; aucune association n'a été trouvée dans trois d'entre elles [48,59,60]. L'étude d'Edgren et al. mérite un commentaire particulier : elle comprend plus de 400 000 transfusions de globules rouges et porte sur la population totale du Danemark et de la Suède [57]. La transfusion de concentrés érythrocytaires plus vieux n'avait pas d'effet statistiquement significatif sur la mortalité sept jours après la transfusion, mais un discret effet est observé deux ans plus tard.

En résumé, plus de 27 études observationnelles ont été publiées jusqu'à maintenant. Treize d'entre elles n'ont pas trouvé d'association. Deux petits essais cliniques randomisés ont aussi été publiés.

Walsh et al. ont étudié 22 adultes en réanimation, euvo-lémiques et sans hémorragie, afin de déterminer si du sang conservé plus longtemps altérerait l'oxygénation de leur muqueuse gastrique mesurée par tonométrie gastrique [41]. Tous les patients présentaient une concentration d'hémoglobine inférieure à 90 g/L et nécessitaient la transfusion d'au moins deux concentrés érythrocytaires. Les patients randomisés recevaient des concentrés conservés depuis moins de cinq jours ou plus de 20 jours. Tous les concentrés étaient déleucocytés. Aucune différence du pH gastrique, ni aucune différence du CO₂ artériel n'ont été observées.

Hébert et al. ont entrepris une étude pilote dans le but de vérifier la faisabilité d'un grand essai clinique multicentrique [59].

Soixante et six patients des soins intensifs et de chirurgie cardiaque de quatre services de réanimation canadiens ont reçu des concentrés érythrocytaires entreposés depuis sept jours ou moins ou des concentrés distribués de façon normale. L'étude pilote a démontré la faisabilité de distribuer du sang plus jeune : l'âge moyen dans le groupe expérimental était de quatre jours, alors qu'il était de 19 jours dans le groupe témoin. Tel qu'attendu, aucune différence statistiquement significative n'a été observée vis-à-vis des complications graves et vis-à-vis la mortalité des patients.

5. Problèmes de santé associés à du sang frais

On oublie souvent que le sang frais n'est pas exempt de risque. Certaines maladies virales sont plus facilement transmises par une transfusion de sang frais. Cela est vrai surtout pour des germes intracellulaires comme le cytomégalovirus, l'Herpes de type 8 et probablement le virus Epstein-Barr, et certains parasites comme la malaria et la maladie de Chagas. De plus, transfuser du sang frais veut dire administrer plus de globules blancs ; il existe donc un risque théorique de microchimérisme [14] et il a été démontré que du sang frais augmentait le risque que le receveur contracte une maladie du greffon contre l'autre [64,65]. Certaines anomalies apparaissent quasiment immédiatement après le prélèvement et la mise en entreposage ; c'est le cas par exemple pour le contrôle du tonus des petits vaisseaux par le couplage hémoglobine intraérythrocytaire et oxyde nitrique. Finalement, il faut rappeler qu'une transfusion de sang frais équivaut à donner environ 3000 mg de glucose [66] ; cela risque de provoquer une hyperglycémie chez le receveur. Or l'hyperglycémie est un marqueur de risque de mortalité en soins intensifs comme l'on démontré de nombreuses études [67,68]. Cette forte concentration de glucose transforme les culots avec le temps : on y observe une glycosylation de l'hémoglobine, des protéines membranaires et aussi des protéines contenues dans le surnageant [69]. La glycosylation interfère avec le lien hémoglobine et oxyde nitrique ; de plus l'affinité de l'hémoglobine glycosylée pour l'oxygène est plus élevée. Est-ce important cliniquement ? On ne le sait pas vraiment. Ce qu'il faut retenir, c'est que le sang frais n'est pas parfaitement sécuritaire. En revanche, les culots globulaires entreposés depuis longtemps ne sont pas non plus exempts de problèmes comme on l'a vu plus haut.

6. Existe-t-il une durée de conservation sécuritaire ?

6.1. Données biologiques

Existe-t-il une durée de conservation absolument sécuritaire ? Si c'est le cas, on pourrait alors décider de transfuser des concentrés entreposés en deçà d'un certain seuil (d'une certaine durée de conservation). Trois obstacles rendent le choix d'un seuil difficile.

Le premier obstacle vient du fait que l'installation des anomalies paracliniques observées dans les concentrés érythrocytaires varie selon l'anomalie. Dans certains cas, la relation entre la durée de conservation et l'installation de l'anomalie est directement proportionnelle ; force est de constater qu'un seuil

parfaitement sécuritaire n'existe pas dans ces circonstances, car un concentré érythrocytaire un peu plus vieux est alors toujours un peu plus risqué qu'un concentré un peu plus jeune. Le contenu en potassium des concentrés érythrocytaires est un bon exemple : il augmente continuellement pendant toute la durée de conservation. La vraie question ici n'est pas de savoir si du sang plus vieux est dangereux, mais plutôt si le potassium contenu dans un concentré donné risque de faire augmenter la kaliémie du receveur dangereusement. L'évolution de plusieurs autres anomalies suit une courbe sigmoïde ; il est sensé dans ces circonstances de proposer un seuil lorsqu'apparaît l'infléchissement de cette courbe en « S ». Par exemple, on pourrait dire que les concentrés sont sécuritaires vis-à-vis de la rigidité des globules rouges si le culot a été entreposé moins de 14 jours [17,70]. On pourrait dire la même chose pour les propriétés procoagulantes des concentrés érythrocytaires qui apparaissent rapidement après la troisième semaine de conservation [18].

Le deuxième problème, c'est que même s'il existe une zone d'infléchissement, cette zone diffère d'un produit à l'autre, comme on vient de le voir. Certaines anomalies apparaissent d'ailleurs si vite qu'on peut se demander s'il existe une durée de conservation vraiment sécuritaire ; c'est le cas par exemple pour l'acidose et pour la dysfonction du couplage hémoglobine/oxyde nitrique qui apparaissent toutes deux moins de trois heures post-conservation [17,37].

Le troisième problème vient du fait que des risques théoriques sont rapportés aussi bien avec du sang frais qu'avec du sang entreposé depuis plus d'une semaine.

En réalité, les données de laboratoire ne permettent pas de définir une durée de conservation qui serait plus sécuritaire qu'une autre. Y aurait-il des études cliniques prospectives suggérant un tel seuil ?

6.2. Études cliniques

Quelques études cliniques laissent effectivement entendre qu'il pourrait y avoir une durée de conservation assez sécuritaire.

L'étude d'Edgren et al. qui portait sur les populations danoise et suédoise en entier montre que la mortalité sept jours après une transfusion commence à augmenter seulement lorsqu'on donne des concentrés érythrocytaires entreposés depuis au moins 28 jours ; il faut noter que la dite surmortalité n'atteint jamais un seuil statistiquement significatif [57]. La mortalité à deux ans s'élève après environ 18 jours, mais la différence devient statistiquement significative seulement après environ 25 ou 26 jours de conservation.

D'autres études ne sont pas sans intérêt. Par exemple, trois études rapportent une surmortalité quand le sort d'adultes transfusés avec du sang plus ou moins âgé était comparé : moins de 14 jours contre plus de 14 jours, sang âgé en moyenne de 11 jours contre 20 jours et concentrés entreposés depuis 17 ou 25 jours en moyenne [55,56,61]. Gauvin et al. ont publié une étude portant sur les 637 enfants recrutés dans l'essai clinique TRIPICU [11,71]. La randomisation de cet essai clinique ne portait pas sur la durée de conservation (on y comparait plutôt deux seuils d'hémoglobine comme indicateur de transfusion). Toutefois, Gauvin et al. ont observé que l'incidence de cas de



Fig. 1. Illustration du biais d'indication (*confounding by indication*) qui pourrait être en jeu entre trois facteurs de risque et la mortalité post-transfusion. Concentré érythrocytaire conservé plus longtemps, nombre de transfusions et gravité des cas sont tous associés étroitement à la mortalité chez les patients transfusés en réanimation. Or, tous trois sont étroitement reliés entre eux. Seul un essai clinique randomisé permettrait de départager la situation et de vérifier si la transfusion de concentrés plus vieux augmente vraiment le risque de mortalité.

syndrome de défaillance multiviscérale nouveau ou progressif était plus élevée chez les enfants ayant reçu du sang entreposé depuis plus de deux à trois semaines [71]. Karam et al. ont publié une autre étude faite dans 30 centres de soins intensifs pédiatriques d'Amérique du Nord [72]. Dans cette étude, la limite choisie pour différencier sang jeune et vieux était la médiane de la durée de conservation des culots, laquelle se chiffrait à 14 jours. Pour les patients avec transfusions multiples, c'était la durée de conservation du concentré le plus vieux qui était prise en compte. L'étude comprenait 297 enfants transfusés. Le risque relatif de voir apparaître ou de voir empirer un syndrome de défaillance multiviscérale était de 1,75 (intervalle de confiance à 95 % : 0,97–3,15, $p=0,06$) après ajustement pour l'âge, la gravité du cas à l'admission et le nombre total de transfusions.

En résumé, au moins cinq études épidémiologiques suggèrent que les produits sanguins entreposés plus de 14 à 21 jours sont moins sécuritaires pour les adultes et les enfants traités en réanimation [55,56,61,71,72]. Il semble donc raisonnable d'émettre l'hypothèse que des concentrés entreposés moins de huit jours sont plus sécuritaires que ceux entreposés en moyenne depuis plus de 14 jours.

Il reste qu'on ne peut pas se baser sur ces études pour affirmer qu'il existe un lien de cause à effet entre durée de conservation et mauvaise évolution des patients transfusés et ce, pour deux raisons.

Premièrement, il faut convenir que les données de l'ensemble des études épidémiologiques portant sur la durée de conservation sont équivoques, car on trouve quasiment autant d'études négatives que positives.

Deuxièmement, il faut réaliser que l'observation d'une association ne signifie pas qu'il existe un lien de cause à effet. Cela est bien expliqué par Middelburg et al. qui parlent de « *confounding by association* » (Fig. 1) [73]. En lisant attentivement la littérature, on se rend compte qu'au moins trois facteurs — la durée de conservation, le nombre de transfusions et la gravité des cas — sont associés à une augmentation de la mortalité chez des patients transfusés en réanimation. Or, ces trois facteurs sont aussi associés entre eux : les patients plus malades reçoivent plus de transfusions et les patients qui reçoivent plus de transfusion ont plus de chance de recevoir du sang plus vieux.

Aucune étude épidémiologique, aussi bien faite soit-elle, ne peut départager le rôle respectif de ces trois facteurs : seul un essai clinique randomisé peut y parvenir. Plusieurs essais cliniques sont effectivement en cours.

6.3. Essais cliniques randomisés

6.3.1. L'étude ABLE

La question la plus souvent posée à propos de la durée de conservation est la suivante : est-ce que la transfusion de concentrés entreposés depuis plus longtemps est nocive pour les patients transfusés ? Cette question est un peu simpliste. En réalité, deux questions se posent : le sang vieux est-il nocif et le sang frais est-il bénéfique ? Un essai clinique ne peut répondre à ces deux questions en même temps. L'étude ABLE (ISRCTN44878718) tente de répondre à la question suivante : est-il plus avantageux d'administrer du sang frais entreposé depuis sept jours ou moins plutôt que du sang distribué selon la politique standard des banques de sang qui consiste à donner en priorité le concentré le plus vieux ? L'étude ABLE est un essai clinique randomisé multicentrique pragmatique à double insu de supériorité faite chez des adultes en réanimation nécessitant la transfusion d'un concentré érythrocytaire. Vingt-deux centres canadiens y participent déjà ; au moins 16 services de réanimation français et dix services de réanimation britanniques vont aussi se joindre au projet. L'hypothèse principale de l'étude est la suivante : la mortalité 90 jours après une première transfusion serait plus basse si le sang donné est entreposé depuis sept jours ou moins comparée à la mortalité qui serait observée lorsque le sang donné est émis de façon standard. La question principale d'ABLE n'est pas : vaut-il mieux transfuser du sang frais à des adultes en réanimation plutôt que du sang vieux ? Pour répondre à cette question, il faudrait donner du sang vieux aux patients du groupe témoin, ce qui serait difficile à défendre sur le plan éthique. La question d'ABLE est plutôt : est-il plus avantageux de transfuser du sang frais à des adultes en réanimation plutôt que de donner des concentrés érythrocytaires selon la politique actuellement en cours ? Le protocole de l'étude ABLE est détaillé ailleurs [74].

6.3.2. Autres essais cliniques

Trois autres essais cliniques portant sur la durée de conservation sont en cours, si l'on se fie au registre « clinicaltrials.gov ».

- l'étude *Age of blood in brain injury*, mené par Dean Chittock (Vancouver) recrutera 60 adultes avec un traumatisme neurologique ; l'objectif est de comparer l'apport en O₂ au cerveau selon l'âge du sang donné ;
- l'étude *Age of red blood cell in premature infants* (ARIP) est mené par Dean Fergusson (Ottawa) ; 450 prématurés seront recrutés afin de voir si les décès, les cas de rétinopathie et de dysplasie broncho-pulmonaire sont moins fréquents avec du sang plus jeune [75] ;
- l'étude RECESS menée par Marie Steiner (Université du Wisconsin) va recruter 1600 cas de chirurgie coronaire avec circulation extracorporelle afin de voir si les cas de syndrome de défaillance multiviscérale nouveau ou progressif sont plus

nombreux avec du sang vieux (> 21 jours) qu'avec du sang « jeune » (< 10 jours).

Une étude pédiatrique est aussi en préparation, l'étude *Age of Blood in Children in Pediatric Intensive Care Units* (ABC-PICU) qui sera menée par Marisa Tucci et Philip C. Spinella.

7. Conclusion

Plusieurs études cliniques épidémiologiques et de nombreuses données de laboratoire suggèrent qu'il existe une association entre la durée de conservation et le sort des patients transfusés [76,77]. Ne pourrait-on pas se contenter de ces données pour émettre des recommandations ? La réponse est négative pour trois raisons.

La première raison, c'est que tous les pays manquent de produits sanguins. L'entreposage diminue les pertes de produits sanguins. Imposer une stratégie préconisant la transfusion de sang frais aurait un impact considérable pour les banques de sang. En 2011, les pertes de culot sont inférieures à 1 % ; elles atteindraient 30 % si la durée de conservation devait être raccourcie de 42 à 21 jours et si cette nouvelle norme était appliquée à tous les patients [78]. Fontaine et al. ont évalué à 20 % la proportion des transfusions qu'il serait impossible de donner si la durée de conservation était réduite à 14 jours ; la proportion serait de 50 % pour une durée de sept jours [79]. Les conséquences de l'implantation d'une politique imposant l'administration de sang frais est si importante qu'on peut dire qu'il n'est pas éthique d'implanter une stratégie de transfusion avec du sang frais sans preuves solides, preuves qu'on ne peut obtenir qu'en réalisant des essais cliniques randomisés.

La deuxième raison, c'est qu'on ne sait pas s'il existe une durée de conservation (un seuil) sécuritaire.

La troisième raison, c'est qu'on ne peut pas se baser sur les études cliniques portant sur l'association entre durée de conservation et sort des patients pour affirmer qu'il existe un lien de cause à effet entre les deux : il faut attendre le résultat d'essais cliniques randomisés avant de se prononcer sur la question.

Les preuves que du sang conservé plus longtemps soit nocif ou que du sang frais soit préférable sont faibles et contradictoires. Les banques de sang ne peuvent pas se permettre de donner du sang frais à tout venant sans justification scientifique. Une politique imposant l'administration de sang frais ne devrait pas être implantée avant d'être appuyée par des faits solides ; de telles données n'existent pas présentement.

Déclaration d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Remerciements

Les recherches sur les produits sanguins des auteurs sont financées par les instituts de recherche en santé du Canada (fond #177453) et par le Fonds de la recherche en santé du Québec (fonds #13904).

Références

- [1] Rous P, Turner JR. The preservation of living red blood cells in vitro. *J Exper Med* 1916;23:219–37.
- [2] Robertson OH. Transfusion with preserved red blood cells. *BMJ* 1918;691–5.
- [3] Lefrère JJ, Rouger P. *Pratique nouvelle de la transfusion sanguine*. 3e édition Paris: Masson; 2009, 159p.
- [4] Mollison PL, Young JM. In vivo survival in the human subject of transfused erythrocytes after storage in various preservative solutions. *Quart J Exp Physiol* 1942;31:359–92.
- [5] Silva M. *Standards for blood banks and transfusion services*. Bethesda: AABB; 2004.
- [6] Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, Fink MP, Levy MM, Abraham E, et al. The CRIT study: anemia and blood transfusion in the critically ill - current clinical practice in the United States. *Crit Care Med* 2004;32:39–52.
- [7] Bateman ST, Lacroix J, Boven K, Forbes P, Barton R, Thomas N, et al. Anemia, blood loss and blood transfusion in North American children in the intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:26–33.
- [8] Proulx F, Fayon M, Farrell CA, Lacroix J, Gauthier M. Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children. *Chest* 1996;109:1033–7.
- [9] Marshall JC. A scoring system for multiple organ dysfunction syndrome. In: Vincent JL, Reinhart K, Eyrich K, Sprung C, editors. *Sepsis: current perspectives in pathophysiology and therapy*. Berlin: Springer-Verlag; 1994 [38–49].
- [10] Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. *N Engl J Med* 1999;340:409–17.
- [11] Lacroix J, Hébert PC, Hutchison JH, Hume H, Tucci M, Dueruet T, et al. Transfusion strategies for patients in pediatric intensive care units. *N Engl J Med* 2007;356:1609–19.
- [12] Cserti-Gazdewich CM. Hitting the “tipping point” of TRICC? *Transfusion* 2010;50:2076–9.
- [13] Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, et al. Age of transfused blood is an independent risk factor for post-injury multiple organ failure. *Am J Surg* 1999;178:570–2.
- [14] Spinella PC, Perkins JG, Grathwohl KW, Repine T, Beekley AC, Sebesta J, et al. Risks associated with fresh whole blood and red blood cell transfusions in a combat support hospital. *Crit Care Med* 2007;35:2576–81.
- [15] Cheng CK, Trethewey D, Sadek I. Comprehensive survey of red blood cell unit life cycle at a large teaching institution in eastern Canada. *Transfusion* 2010;50:160–5.
- [16] Karam O, Tucci M, Toledano BJ, Robitaille N, Cousineau J, Thibault L, et al. Length of storage and in vitro immunomodulation induced by prestorage leukoreduced red cell concentrates. *Transfusion* 2009;49:2326–35.
- [17] Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17063–8.
- [18] Sweeney J, Kouttab N, Kurtis J. Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation. *Transfusion* 2009;49:1569–79.
- [19] Schroeder TH, Hansen M. Effects of fresh versus old blood in the priming solution on whole blood lactate levels during paediatric cardiac surgery. *Perfusion* 2005;20:17–9.
- [20] Heddle NM. Pathophysiology of febrile nonhemolytic transfusion reactions. *Curr Opin Hematol* 1999;6:420–6.
- [21] Shanwell A, Kristiansson M, Remberger M, Ringdén O. Generation of cytokines in red cell concentrates during storage is prevented by prestorage white cell reduction. *Transfusion* 1997;37:678–84.
- [22] Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Buurman W. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest* 1999;116:1233–9.
- [23] Sparrow RL, Patton KA. Supernatant from stored red blood cell primes inflammatory cells: influence of prestorage white cell reduction. *Transfusion* 2004;44:722–30.
- [24] Voelkel NF. Hidden inflammatory potential of the red blood cell. *Crit Care Med* 2000;28:2149–50.
- [25] Wadhwa M, Seghatchian MJ, Dilger P, Sands D, Krailadistri P, Contreras M, et al. Cytokines in WBC-reduced apheresis PCs during storage: A comparison of two WBC-reduction methods. *Transfusion* 2000;40:1118–26.
- [26] Cardo LJ, Wilder D. Platelet activating factor (PAF) accumulates on cell membrane during RBC storage and is prevented by leukofiltration at collection. *Transfusion* 2009;49:12A.
- [27] Hess JR. Red cell storage. *J Prot* 2010;73:368–73.
- [28] Aiboshi J, Moore EE, Ciesla DJ, Silliman CC. Blood transfusion and the two-insult model of post-injury multiple organ failure. *Shock* 2001;15:302–6.
- [29] Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffi WL, Silliman CC. Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA2. *Shock* 2000;13:29–33.
- [30] Lysenko L, Mierzczała M, Gamian A, Durek G, Kübler A, Kozłowski R, et al. The effect of packed red blood cell storage on arachidonic acid and advanced glycation end-product formation. *Arch Immunol Ther Exp* 2006;54:357–62.
- [31] Hod EA, Zhang N, Sokol SA, Wojczyk BS, Francis RO, Ansaldi D, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood* 2010;115:4284–92.
- [32] Heaton A, Keegan T, Holme S. In vivo regeneration of red cell 2, 3-diphosphoglycerate following transfusion of DPG-depleted AS-1, AS-3 and CPDA-1 red cells. *Br J Haematol* 1989;71:131–6.
- [33] Donadello K, Reggiori G, Vincent JL, Piagnerelli M. La détérioration progressive de la déformabilité érythrocytaire au cours du sepsis est associée à une mortalité accrue. *Reanim* 2010;19:S93.
- [34] Henkelman S, Dijkstra-Tiekstra MJ, de Wildt-Eggen J, Graaff R, Rakhorst G, van Oeveren W. Is red blood cell rheology preserved during routine blood bank storage? *Transfusion* 2010;50:941–8.
- [35] Koshkaryev A, Zelig O, Manny N, Yedgar S, Barshtein G. Rejuvenation treatment of stored red blood cells reverses storage-induced adhesion to vascular endothelial cells. *Transfusion* 2009;49:2136–43.
- [36] Chin-Yee IH, Gray-Statchuk L, Milkovich S, Ellis CG. Transfusion of stored red blood cells adhere in the rat microvasculature. *Transfusion* 2009;49:2304–10.
- [37] Doctor A, Platt R, Sheram ML, Eischeid A, McMahon T, Maxey T, et al. Hemoglobin conformation couples erythrocyte S-nitrosothiol content to O₂ gradients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:5709–14.
- [38] Tissot JD, Rubin O, Canellini G. Analysis and clinical relevance of micro-particles from red blood cells. *Curr Opin Hematol* 2010;17:571–7.
- [39] Desmet L, Lacroix J. Transfusion in pediatrics. *Crit Care Clin* 2004;20:299–311.
- [40] Marik PE, Sibbald WJ. Effect of stored blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993;269:3024–9.
- [41] Walsh TS, McArdle F, McLellan SA, Maciver C, Maginnis M, Prescott RJ, et al. Does the storage time of transfused red blood cells influence regional or global indexes of tissue oxygenation in anemic critically ill patients? *Crit Care Med* 2004;32:364–71.
- [42] Kiraly LN, Underwood S, Differding JA, Schreiber MA. Transfusion of aged packed red blood cells results in decreased tissue oxygenation in critically injured trauma patients. *J Trauma* 2009;67:29–32.
- [43] Vamvakas EC, Carven JH. Transfusion and postoperative pneumonia in coronary artery bypass graft surgery: effect of the length of storage of transfused red cells. *Transfusion* 1999;39:701–10.
- [44] Leal-Noval SR, Marquez-Vácaro JA, García-Curiel A, Camacho-Laraña P, Rincón-Ferrari MD, Ordoñez-Fernández A, et al. Nosocomial pneumonia in patients undergoing heart surgery. *Crit Care Med* 2000;28:935–40.
- [45] Weinberg JA, McGwin G, Marques MB, Cherry SA, Reiff DA, Kerby JD, et al. Transfusions in the less severely injured: does age of transfused blood affect outcomes? *J Trauma* 2008;65:794–8.
- [46] Offner PJ, Moore EE, Biffi WL, Johnson JL, Silliman CC. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Arch Surg* 2002;137:711–6.

- [47] Taylor RW, Manganaro L, O'Brien J, Trottier SJ, Parkar N, Veremakis C. Impact of allogenic packed red blood cell transfusion on nosocomial infection rates in the critically ill patient. *Crit Care Med* 2002;30:2249–54.
- [48] Yap CH, Lau L, Krishnaswamy M, Gaskell M, Yui M. Age of transfused red cells and early outcomes after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2008;86:554–9.
- [49] Keller ME, Jean R, LaMorte WW, Millham F, Hirsch E. Effects of age of transfused blood on length of stay in trauma patients: a preliminary report. *J Trauma-Inj Infect Crit Care* 2002;53:1023–5.
- [50] Murrell Z, Haukoos JS, Putnam B, Klein SR. The effect of older blood on mortality, need for ICU care, and the length of ICU stay after major trauma. *Am Surg* 2005;71:781–5.
- [51] Martin CM, Sibbald WJ, Lu X, Hébert P, Schweitzer I. Age of transfused red blood cells is associated with ICU length of stay. *Clin Invest Med* 1994;17:B21.
- [52] Vamvakas EC, Carven JH. Length of storage of transfused red cells and postoperative morbidity in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Transfusion* 2000;40:101–9.
- [53] Spinella PC, Carroll CL, Staff I, Gross R, Mc Quay J, Keibel L, et al. Duration of red blood cell storage is associated with increased incidence of deep vein thrombosis and in-hospital mortality in patients with traumatic injuries. *Crit Care Med* 2009;13:R151.
- [54] Katsios CM, Griffith L, Spinella PC, Evanovitch D, Lacroix J, Zytaruk M, et al. Neither red blood cell transfusions nor age of blood predict deep vein thrombosis in medical-surgical critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:A4556.
- [55] Purdy FR, Tweeddale MG, Merrick PM. Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients. *Can J Anaesth* 1997;44:1256–61.
- [56] Weinberg JA, McGwin G, Griffin RL, Huynh VQ, Cherry SA, Marques MB, et al. Age of transfused blood: an independent predictor of mortality despite universal leukoreduction. *J Trauma* 2008;65:279–82.
- [57] Edgren G, Kamper-Jørgensen M, Eloranta S, Rostgaard K, Custer B, Ullum H, et al. Duration of red blood cell storage and survival of transfused patients (CME). *Transfusion* 2010;50:1185–95.
- [58] Basran S, Frumento RJ, Cohen A, Lee S, Du Y, Nishanian E, et al. The association between duration of storage of transfused red blood cells and morbidity and mortality after reoperative cardiac surgery. *Anesth Analg* 2006;103:15–20.
- [59] Hébert PC, Chin-Yee I, Fergusson D, Blajchman M, Martineau R, Clinch J, et al. A pilot trial evaluating the clinical effects of prolonged storage of red cell. *Anesth Analg* 2005;100:1433–8.
- [60] Van de Watering L, Lorinser J, Versteegh M, Westendorp R, Brand A. Effects of storage time of red blood cell transfusion on the prognosis of coronary artery bypass graft patients. *Transfusion* 2006;46:1712–8.
- [61] Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T, et al. Duration of red cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:1229–39.
- [62] Robinson SD, Janssen C, Fretz EB, Berry B, Chase AJ, Siega AD, et al. Red blood cell storage duration and mortality in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2010;159:876–81.
- [63] Eikelboom JW, Cook RJ, Liu Y, Hedde NM. Duration of red cell storage before transfusion and in-hospital mortality. *Am Heart J* 2010;159:737–43.
- [64] Takahashi K, Juji T, Miyamoto M, Uchida S, Akaza T, Tadokoro K, et al. Analysis of risk factors for post-transfusion graft versus host disease in Japan. *Lancet* 1994;343:700–2.
- [65] Parshuram C, Doyle J, Lau W, Shemie SD. Transfusion-associated graft versus host disease. *Pediatr Crit Care Med* 2002;3:57–62.
- [66] Tang C, Ristagno G, Sun S, Weil MH. Increased oxygen releasing capacity together with progressive acidosis in human red blood cells during storage. *Crit Care Med* 2008;36:A25.
- [67] Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2001;345:1359–67.
- [68] Faustino EV, Apkon M. Persistent hyperglycemia in critically ill children. *J Pediatr* 2005;146:30–4.
- [69] Szélényi JG, Földi J, Hollan SR. Enhanced nonenzymatic glycosylation of blood proteins in stored blood. *Transfusion* 1983;23:11–4.
- [70] Bosman GJ, Werre JM, Willekens FL, Novotný VM. Erythrocyte ageing in vivo and in vitro: structural aspects and implications for transfusion. *Transfus Med* 2008;18:335–47.
- [71] Gauvin F, Spinella PS, Lacroix J, Choker G, Ducruet T, Hébert PC, et al. Association between length of storage of transfused red blood cells and multiple organ dysfunction syndrome in pediatric intensive care. *Transfusion* 2010;50:1902–13.
- [72] Karam O, Tucci M, Bateman ST, Ducruet T, Spinella PC, Randolph AG, et al. Association between length of storage of red blood cell units and outcome of critically ill children. *Crit Care* 2010;14:R57.
- [73] Middelburg RA, van de Watering LMG, van der Bom JG. Blood transfusions: good or bad? Confounding by indication, an underestimated problem in clinical transfusion research. *Transfusion* 2010;50:1881–3.
- [74] Lacroix J, Hébert PC, Fergusson D, Tinmouth A, Blajchman MA, Callum J, et al. The age of blood evaluation (ABLE) randomized controlled trial: study design. *Transf Med Rev* 2011; 25: en impression.
- [75] Fergusson D, Hutton B, Hogan DL, LeBel L, Blajchman MA, Ford JC, et al. The age of red blood cells in premature infants (ARIPI) randomized controlled trial: study design. *Transfus Med Rev* 2009;23:55–61.
- [76] Tinmouth A, Fergusson D, Chin-Yee I, Hebert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006;46:2014–27.
- [77] Lelubre C, Piagnerelli M, Vincent JL. Association between duration of storage of transfused red blood cells and morbidity and mortality in adult patients: myth or reality? *Transfusion* 2009;49:1384–94.
- [78] Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored blood cells. *Vox Sang* 2009;96:93–103.
- [79] Fontaine MJ, Chung YT, Erhun F, Goodnough LT. Age of blood as a limitation for transfusion: potential impact on blood inventory and availability. *Transfusion* 2010;50:2233–9.