



PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE N° 8420

L'impact clinique de la durée de conservation des concentrés érythrocytaires destinés aux patients de chirurgie cardiaque

5 octobre 2011

1. INTRODUCTION ET QUESTION

En date du 26 mai 2008, le Conseil Supérieur de la Santé (CSS) a reçu une demande d'avis de madame la ministre des Affaires sociales et de la Santé publique¹ concernant les éventuelles mesures à adopter quant au délai de conservation des concentrés érythrocytaires destinés aux patients de chirurgie cardiaque.

Suite à l'organisation d'une conférence d'experts au sujet des indications pour la transfusion des globules rouges en novembre 2005, le CSS avait déjà évalué la littérature pertinente relative à une éventuelle répercussion clinique de la durée de conservation des concentrés érythrocytaires (Baele et al., 2008). En effet, des études rétrospectives larges montraient parfois un impact négatif de la durée d'entreposage sur certains paramètres cliniques (Basran et al., 2006). Toutefois, les différences significatives initiales peuvent disparaître après ajustement pour les facteurs de confusion inhérents à toute approche rétrospective (van de Watering et al., 2006). Bien que les deux essais cliniques randomisés existant à cette époque (Walsh et al., 2004; Hébert et al., 2005) n'étaient pas la possibilité d'un effet néfaste des lésions de stockage sur les paramètres cliniques, il est néanmoins bon de préciser que ces études sont de taille trop limitée pour permettre de tirer une conclusion définitive à ce sujet. A noter également que dans leur étude pilote prospective portant sur 66 patients, Hébert et al. (2005) imputent, à *courte* durée de conservation des concentrés érythrocytaires, une issue défavorable aux receveurs. Par conséquent, le CSS concluait que les résultats des études cliniques sont partagés et ne permettent pas, en absence d'essai clinique randomisé de puissance adéquate, d'émettre une recommandation pour la pratique transfusionnelle.

La présente demande découle des conclusions comminatoires de l'étude de Koch et al. (2008) qui a examiné le résultat de transfusions de globules rouges chez des patients adultes ayant subi une chirurgie cardiaque entre 1998 et 2006 dans le même centre hospitalier. Ces auteurs ont divulgué que les complications et la mortalité postopératoires augmentent chez les patients ayant reçu exclusivement des concentrés érythrocytaires entreposés durant plus que deux semaines. Les soucis que cette étude étendue (portant sur 6.000 patients) soulève sont fondamentaux pour la pratique de la médecine transfusionnelle et ne peuvent être ignorés.

L'objectif du présent avis est donc d'examiner la validité des résultats et conclusions tendant à soutenir qu'il existe des complications postopératoires chez les patients de chirurgie cardiaque qui sont aggravées par l'administration de concentrés érythrocytaires entreposés pendant plusieurs semaines.

¹ Courrier de Mme. L. Onkelinx, ministre des Affaires Sociales et de la Santé publique (sous réf. FAGG/LM/30343), du 21/05/08, adressé à M. G. De Backer, Président du CSS.

L'avis est basé sur l'opinion des experts ayant des expertises en transfusion sanguine, hématologie, biologie clinique, microbiologie, médecine interne, anesthésiologie, soins intensifs et chirurgie cardiaque.

2. AVIS

Le CSS recommande de ne pas prendre en compte, aujourd'hui, la durée de conservation des concentrés érythrocytaires pour la transfusion sanguine des patients en chirurgie cardiaque, ni d'ailleurs dans les autres situations cliniques chez l'adulte, et ce pour les raisons suivantes:

- discordance des résultats enregistrés;
- caractère discuté, subjectif et non défini de la durée de conservation à adopter;
- impact limité des effets cliniques invoqués en termes de gravité clinique et de proportion des patients touchés;
- incertitudes méthodologiques concernant la réalisation et le traitement statistique dans les études positives publiées;
- variabilités techniques en matière de production des concentrés érythrocytaires (solution de conservation utilisée, déleucocytation ou non et méthode de déleucocytation); ainsi que
- risques de désorganisation et de pénurie en composants sanguins en cas de recours élargi à des concentrés érythrocytaires de courte durée de conservation.

En attendant qu'une réponse scientifique claire et univoque soit apportée à la question posée, il y a davantage d'intérêt médical à peser avec rigueur l'indication transfusionnelle, qu'à introduire un processus de sélection des concentrés érythrocytaires basé sur leur durée de conservation.

3. ELABORATION ET ARGUMENTATION

Abréviations utilisées: 2-3-DPG = 2,3-diphosphoglycérate; ACTH = adrénocorticotrophine; AGE = *advanced glycation end products*; ATP = adénosine triphosphate; CE = concentré érythrocytaire; CEC = circulation extra-corporelle; CPD(A) = citrate phosphate dextrose (adénine); GPIIb/IIIa = glycoprotéine IIb/IIIa; GvHD = *graft versus host disease*; H₂O₂ = peroxyde d'hydrogène; ICAM = *inter-cellular adhesion molecule*; ICU = *intensive care unit*; IgG = immunoglobuline G; IL = interleukine; LDH = lactate déshydrogénase; MODS = *multiple organ dysfunction syndrome*, syndrome de défaillance polyviscérale; NO = oxyde nitrique; NTBI = *non-transferrin-bound iron*; PICU = *pediatric intensive care unit*; PgE₂ = prostaglandine E₂; pO₂ = pression partielle d'oxygène; PS = phosphatidylsérine; RAGE = récepteur d'*advanced glycation end products*; RCT = *randomised controlled trial*, étude randomisée contrôlée; ROS = *reactive oxygen species*; SIRS = *systemic inflammatory response syndrome*, syndrome de réponse inflammatoire systémique; SNO = *nitrosothiol*; TNF = *tumour necrosis factor*, facteur de nécrose tumorale; TRALI = *transfusion related acute lung injury*; VCAM = *vascular cell adhesion molecule*; VO₂ = consommation d'oxygène.

3.1 Méthodologie

L'avis est basé sur une révision systématique des meilleures connaissances et preuves existantes, ainsi que sur l'évaluation par les experts du débat scientifique actuellement en cours dans ce domaine. La révision systématique est le résultat d'une recherche approfondie des listes de références de tous les articles pertinents, des articles disponibles en ligne avant parution auprès des journaux principaux en transfusion clinique, trauma, soins intensifs, chirurgie thoracique et chirurgie colorectale. Ces données ont été complétées avec des recherches d'articles apparentés. De plus, de nombreux auteurs ont été contactés pour d'éventuelles publications en cours et des renseignements manquants permettant de mieux juger l'adéquation des résultats publiés. En outre, une recherche exhaustive a été réalisée dans la banque de données PubMed à l'aide des mots clés suivants: *cardiac surgery, erythrocyte, red blood cell,*

transfusion, storage, storage lesion, blood banking, old blood et fresh blood. Environ 2.000 articles ont été trouvés dont à peu près 700 ont été lus pour en conserver les plus représentatifs. La collecte des données a été clôturée à la fin août 2011.

3.2 Elaboration

A partir de ses premiers succès historiques, le recours à la transfusion sanguine en général et à celle de concentrés érythrocytaires en particulier, s'est étendu, au milieu du siècle dernier, à des domaines médicaux nombreux.

Cette expansion de la demande en composants sanguins, conjuguée à l'exigence croissante en matière de sécurité, n'a pu se réaliser que par le développement de procédés de conservation de plus en plus efficaces qui ont permis de passer progressivement d'une transfusion extemporanée de bras à bras, à la durée de conservation maximale actuelle de 49 jours avant transfusion pour les concentrés érythrocytaires (CE).

En l'absence d'un test clinique d'efficacité fonctionnelle érythrocytaire, les normes actuelles se limitent d'une part à des prescriptions techniques de validité au stade du prélèvement (volume, contenu en hémoglobine, etc.), au terme de la conservation (taux d'hémolyse spontanée admis de 1 % aux USA, 0,8 % dans l'UE) et après la transfusion chez le receveur (au moins 75 % des érythrocytes transfusés doivent rester en circulation après 24 h, sur base d'un test impliquant un aliquote d'érythrocytes marqués et non une dose thérapeutique).

Depuis une vingtaine d'années essentiellement, les études cliniques élaborées dans le cadre de l'intérêt croissant pour la sécurité transfusionnelle, ont posé la question d'effets négatifs potentiels chez le receveur liés à la dégradation progressive des composants des concentrés érythrocytaires au cours de leur conservation (Tinmouth et al., 2006; Hess, 2010; Stowell, 2010). Ces études ont surtout concerné les domaines de la médecine qui conjuguent une morbidité particulière des patients à l'utilisation quantitativement importante de concentrés érythrocytaires, notamment en chirurgie cardiaque (Marik & Corwin, 2008; Laurie et al., 2010; Wilkinson et al., 2011).

Dans le cadre du traitement de cette problématique, il est tout d'abord fait mention de la dégradation des érythrocytes lors du stockage (*storage lesion*). Par ailleurs, toutes les études cliniques publiées sont prises en compte, quel qu'en soit le contexte.

3.2.1. Evolution des concentrés érythrocytaires au cours de leur conservation

La dégradation progressive d'un tissu humain placé dans un milieu de conservation artificiel est une constatation triviale. La recherche a d'ailleurs pu mettre en évidence de nombreuses altérations des érythrocytes conservés, tant biochimiques que structurelles. Il a été ensuite suggéré que ces altérations pouvaient, selon leur nature, conduire à 3 principales catégories de perturbations physiologiques:

- diminution de la fonction de transport et de délivrance de l'oxygène moléculaire aux tissus, par diminution de la capacité de transport, altération des cinétiques d'échanges gazeux ou de l'adaptation rhéologique normale à l'hypoxie tissulaire, adhésion à l'endothélium, blocage de la microcirculation et séquestration splénique post-transfusionnelle;
- perturbation du système immunitaire par stimulation de cellules immunocompétentes, stimulation du développement bactérien ou génération d'allo- ou d'autoanticorps;
- déclenchement ou potentiation d'un syndrome inflammatoire systémique (SIRS – *systemic inflammatory response syndrome*) par des chimiokines, par des microparticules de type ectosomes, ou par des ROS (*reactive oxygen species*) générés par l'hémoglobine libre ou le fer libre (NTBI).

Toutefois, ces perturbations physiologiques évoluent de façon différente en fonction des solutions de conservation utilisées. En Belgique, les concentrés érythrocytaires sont ordinairement déleucocytés par filtrage et mis en suspension dans une solution « saline, adénine, glucose, mannitol » à basse température (entre + 2 °C et + 6 °C) (CSS, 2010).

3.2.1.1. Modifications du métabolisme

La conservation à basse température et la modification de l'environnement biochimique naturel remplacé par des solutions anticoagulantes et de conservation engendrent de nombreuses perturbations métaboliques.

1. Baisse progressive du pH (entre 6,6 et 6,9 après six semaines) et augmentation de la concentration érythrocytaire en lactate dès les premières heures (de 0 - 6 à 18 - 47 mmol/L en six semaines).

2. Baisse progressive de la concentration en ATP (de 95 µg/dL à 30 µg/dL après 6 semaines) et du pool des nucléotides en général, abaissant le niveau de métabolisme érythrocytaire par ralentissement de la voie glycolytique. Cette baisse aggrave la diminution d'activité de la Na⁺-K⁺-ATPase induite par la faible température de conservation, avec fuite extracellulaire de K⁺ dont la concentration peut quintupler dans le surnageant en six semaines. Ce relargage pourrait être à la base de complications cardiaques chez les nouveau-nés. D'autre part l'ATP est libéré physiologiquement par les érythrocytes en réponse à l'hypoxie (Ellsworth, 2000) et au stress mécanique et il a été proposé qu'il induise une vasodilatation par libération endothéliale de NO^o: la diminution de sa concentration au cours de la conservation diminuerait l'efficacité de la vasodilatation induite par l'hypoxie.

3. Le ralentissement métabolique diminuerait la concentration des molécules et enzymes (glutathion, vitamine C, catalase, superoxyde dismutase) qui réduisent normalement la méthémoglobine générée physiologiquement en faible quantité (Korgun et al., 2001). *In vitro*, la limitation de cette réduction se traduit par une réaction de Fenton avec formation de ROS susceptibles d'oxyder des protéines de la membrane et du cytosquelette telles que la Bande 3 et la spectrine (Kriebardis et al., 2007) et des lipides avec formation de lysophospholipides (Zimrin & Hess, 2009). On observe une élévation de l'indice de peroxydation dans des érythrocytes humains conservés dans le CPDA - citrate phosphate dextrose adénine (Korgun et al., 2001). Dans un modèle murin, un traitement au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) supposé simuler ce processus oxydatif, augmente l'adhérence des érythrocytes à l'endothélium et diminue leur déformabilité, concourant à l'augmentation de la résistance vasculaire à l'écoulement sanguin (Kaul et al., 2008).

4. La méthémoglobine formée s'accumulerait à la face interne de la membrane plasmique et entraînerait l'agrégation de tétramères de protéine Bande 3 (*clustering*). Ces agrégats seraient ensuite reconnus par des anticorps de type IgG qui opsoniseraient la surface érythrocytaire. Leur apparition précède la perte de phospholipides membranaires (Karon et al., 2009). La protéine Bande 3 est clivée au niveau de son extrémité N-terminale qui est libérée dans le cytosol. Enfin la dégradation de la Bande 3 native, irréversible après deux semaines de conservation, abaisse l'*uptake* du glucose.

5. La pO₂ à l'intérieur du CE quadruple en six semaines (de 25 - 50 mmHg à 90 - 250 mmHg), le taux de saturation passant également de 35 à 100 %.

6. Sous l'action de l'oxygène, l'ensemble du protéome se modifie dans un délai de deux semaines environ avec apparition de nouveaux spots en électrophorèse bidimensionnelle (Bosman et al., 2008; Bosman et al., 2008b) et les membranes plasmiques érythrocytaires libèrent progressivement diverses protéines, notamment celles du cytosquelette. Ce phénomène est du également en partie à l'action de protéases oxygène dépendantes (D'Amici et al., 2007).

La dissociation de l'O₂ provoque à terme la génération de radicaux hydroxyles capables d'interagir avec des lipides membranaires tels que l'acide arachidonique donnant naissance à des isoprostanes (Morrow et al., 1990). Le stress oxydant induit par la conservation génère la formation de produits terminaux de glycation avancés (AGEs - *advanced glycation end products*) qui induisent à leur tour la production de ROS par les cellules endothéliales, susceptible de causer des dommages (Mangalmurti et al., 2010). Le rôle délétère du stress oxydatif dans la qualité de conservation des érythrocytes est avancé depuis longtemps (Racek et al., 1997; Sharifi et al., 2000).

7. Flux entrant de Ca⁺⁺ responsable, selon un modèle expérimental, d'une cascade d'événements conduisant à terme à l'apoptose cellulaire (érythroptose) via l'activation des calpaïnes: un choc osmotique initial provoquerait la synthèse de PgE₂ qui activerait les canaux cationiques membranaires à la base du flux calcique.

8. Disparition progressive du 2,3-DPG liée à l'activité d'une phosphatase active à basse température (de 4 mmol/L à 0 en deux semaines) ce qui augmente l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène et diminue la délivrance d'O₂ aux tissus: *in vitro* la libération d'O₂ par l'érythrocyte est inversement proportionnelle à la teneur corpusculaire en 2,3-DPG (Hamasaki & Yamamoto, 2000).

9. Libération dans le milieu extracellulaire de conservation de molécules diverses: histamine, LDH, protéines du complément, arginine, ubiquitine, etc. *In vitro*, l'ubiquitine libérée modifie le profil de sécrétion cytokinique (IL-8, TNF-α) des leucocytes en coculture (Patel et al., 2006). Le surnageant de concentrés conservés stimule la production cytokinique de leucocytes mononucléés périphériques (Baumgartner et al., 2009), retarde l'apoptose de polynucléaires neutrophiles et stimule leur cytotoxicité (Biffi et al., 2001). Il a été proposé que l'arginase exerce une action immunosuppressive par la métabolisation accrue de l'arginine (Prins et al., 2001; Bernard et al., 2007), ce qui diminuerait parallèlement la production d'oxyde nitrique (NO) vasodilatateur généré par la conversion de l'arginine en citrulline. Selon certains auteurs, cette baisse de production de NO serait aggravée par la perte très rapide des dérivés nitrosothiol en position Cys-93 de la chaîne β de l'hémoglobine dès le début de la conservation avec diminution de la réponse vasodilatatrice à l'hypoxie (Reynolds et al., 2007). Les mêmes auteurs observent des niveaux abaissés de nitrosylation dans une variété d'états pathologiques caractérisés par l'hypoxie tissulaire (Reynolds et al., 2011). L'hémolyse partielle et l'augmentation d'hémoglobine libre qui accompagne la conservation induiraient aussi un phénomène de capture (*scavenging*) du NO libre dans le flux sanguin: l'hémoglobine libre relarguée et l'hémoglobine contenue dans les microparticules générées au cours de la conservation restent à l'état réduit et capturent le NO circulant 1.000 fois plus rapidement que l'hémoglobine corpusculaire (Donadee et al., 2011). Chez le rat, *in vivo*, l'infusion d'hémoglobine libre réduite induit une vasoconstriction. Le même résultat est observé en utilisant le surnageant de concentrés érythrocytaires conservés, la vasoconstriction étant proportionnée à l'intensité de l'hémolyse du concentré (Donadee et al., 2011). Le rôle de la consommation du NO est également souligné par Kim-Shapiro et al. (2011). Quelle qu'en soit l'origine, la faible disponibilité de NO a été proposée comme responsable de l'augmentation observée de la mortalité et de la morbidité de certains patients (Roback et al., 2011).

10. Le déclenchement possible d'une riposte inflammatoire a bénéficié d'un développement récent et intéressant. Une étude remarquable et bien contrôlée (Hod et al., 2010) montre, dans un modèle murin, que la phagocytose hépatosplénique d'érythrocytes transfusés vieillissants aboutit dans les heures qui suivent la transfusion à la libération du fer libéré par les phagolysosomes dans le cytoplasme des cellules phagocytaires. Les concentrations de fer libre seraient suffisantes pour créer un stress oxydatif cellulaire et une réponse cytokinique proinflammatoire initiée par les macrophages spléniques et les cellules de Kupffer hépatiques. Le fer excédentaire libéré ensuite dans le plasma, à condition de dépasser les capacités de captation de la transferrine, provoquerait des réactions oxydatives dans les tissus (foie, rein et rate

essentiellement) accompagnées de processus de cytotoxicité et d'expression accrue de molécules d'adhésion au niveau de l'endothélium, tout en favorisant la croissance de bactéries ferro-dépendantes comme *Escherichia coli*. L'ensemble des effets proinflammatoires observés peut aggraver un état inflammatoire préexistant induit artificiellement jusqu'à produire des manifestations cliniques potentiellement létales et ce toujours dans ce modèle murin. Les travaux de Hod confirment et amplifient des études antérieures sur la phagocytose des érythrocytes (Delaby, 2005; Delaby, 2008). La même équipe (Hendrickson et al., 2011) montre une production accrue (*storm*) de cytokines proinflammatoires quand on accélère la *clearance* d'érythrocytes transfusés par un stress physicochimique préalable — conservation, phénylhydrazine, température —, toujours chez la souris. Curieusement la transfusion simultanée d'érythrocytes âgés et frais prévient la génération de ces cytokines (Hendrickson et al., 2011). Une transposition des expérimentations sur la souris à l'homme est en cours (Hod & Spitalnik, 2011).

3.2.1.2. Modifications de la membrane plasmique

La structure membranaire se modifie progressivement et s'accompagne d'émission de microparticules de type ectosomes (*bubbling*) de taille croissante avec le temps, entraînant une diminution parallèle de la capacité oxyphorique par diminution de volume des érythrocytes.

1. Par comparaison avec la membrane érythrocytaire normale, on observe *in vitro* au sein de ces ectosomes une réorganisation et une modification des protéines membranaires (Rubin, 2008), notamment celles incluses dans les *lipids rafts*, ainsi qu'un enrichissement en stomatine et un appauvrissement en flotillines (Salzer et al., 2008). On retrouve également des agrégats d'hémoglobine, de la protéine Bande 3, ainsi que Fas, FADD, procaspases 3 et 8 et leurs produits de dégradation, CD47 et IgG, mais ni spectrine, ni ankyrine (Greenwalt, 2006; Kriebardis et al., 2007b; Kriebardis et al., 2008). L'index d'oxydation croît au cours du temps. Les microparticules sont riches en phospholipides chargés négativement ce qui pourrait entraîner un phénomène d'hypercoagulabilité. Elles fixent le C1q, activent le complément avec une liaison du C3 et, après phagocytose, inhibent l'activation des macrophages, participant peut être à un phénomène d'immunosuppression (Sadallah et al., 2008). Les microparticules montreraient une capacité altérée à capter les cytokines circulantes via l'antigène Duffy. Ce phénomène étant supposé entraîner une activation des plaquettes circulantes responsable de la libération de cytokines proinflammatoires (Xiong et al., 2011). A l'inverse, le surnageant de concentrés non déleucocytés contient des substances diminuant l'expression plaquettaire de GPIIb/IIIa et inhibant l'agrégation (Matheu & Mc Faul, 2010). *In vitro*, l'adhésion et l'agrégation de plaquettes humaines sont altérées par la présence d'érythrocytes conservés plus de 30 jours (Morrison et al., 2010).

2. Outre les phénomènes d'oxydation protéique et de peroxydation lipidique cités plus haut, on observe une accumulation de monomères, dimères et multimères d'hémoglobine sur la face interne de la membrane plasmique au niveau du cytosquelette.

3. L'opsonisation par des immunoglobulines de type IgG, l'externalisation progressive de la phosphatidylsérine sur le feuillet externe de la membrane plasmique, l'apparition de motifs moléculaires reconnaissables par les déterminants *lectin-like* des macrophages (β -galactose, N-acétylglucosamine) et la désialylation favoriseraient la reconnaissance et la capture des érythrocytes par les cellules phagocytaires ainsi que l'adhérence à l'endothélium enflammé et aux plaquettes circulantes. L'externalisation de la phosphatidylsérine a été associée à la génération de thrombine (Sweeney et al., 2009).

4. Un état inflammatoire préexistant (patients en soins intensifs, états de sepsis) augmenterait l'expression de molécules d'adhésion au sein de la membrane plasmique endothéliale (E-sélectine, ICAM-1 et VCAM-1) par action du TNF- α et des interleukines 1 et 6. La présence accrue de nombreux facteurs d'adhésion déclenche une interaction entre endothélium et érythrocytes qui se renforcerait avec la durée de conservation érythrocytaire (Annis & Sparrow,

2006). L'adhésion serait encore favorisée par la formation d'AGEs (notamment de N-carboxyméthyl-lysine) susceptibles de réagir avec le récepteur correspondant (RAGE) de la membrane endothéliale et par l'expression à la surface érythrocytaire de molécules d'adhésion tels que CD44, CD47, CD58 et CD147 (Sparrow & Healey, 2006). L'adhésion accrue à l'endothélium favoriserait l'initiation ou l'aggravation d'une réponse inflammatoire locale, notamment au niveau pulmonaire: *in vitro*, le surnageant de CE déleucocytés augmente directement la perméabilité de l'endothélium pulmonaire (Rao et al., 2006) et à une activité procoagulante en général (Lu et al., 2010).

5. Diminution de l'expression membranaire de l'antigène Duffy et baisse du *scavenging* des chimiokines proinflammatoires favorisant l'inflammation pulmonaire (dans un modèle expérimental utilisant des souris endotoxinémiques).

6. La résistance osmotique de l'érythrocyte diminue avec le temps de conservation.

3.2.1.3. Changements morphologiques

Parallèlement à la diminution de volume par microvésiculation, l'érythrocyte évolue progressivement de sa forme classique de disque biconcave souple vers le stade terminal de sphéroéchinocyte rigide (Berezina et al., 2002), ayant une tendance à l'agrégabilité et à l'adhésion à l'endothélium. Réversible au début, cette évolution serait liée notamment à l'acidose et à la baisse du contenu corpusculaire en ATP. Les sphéroéchinocytes terminaux sont directement séquestrables par les macrophages spléniques ou hépatiques. Il a été suggéré que la diminution de la déformabilité, les phénomènes d'agrégation et d'adhésion à l'endothélium pourraient provoquer un blocage physique de la microcirculation capillaire, voire une ischémie locale (Marik & Sibbald, 1993; Raat et al., 2005). Indépendamment de la cause invoquée, la perfusion de CE de longue conservation est régulièrement associée à une diminution du flux sanguin microvasculaire, de la pO₂ ou de l'extraction d'O₂ dans des modèles animaux (van Bommel et al., 2001; Tsai et al., 2004; Raat et al., 2005).

3.2.1.4. Effets des leucocytes résiduels

Les leucocytes présents dans le CE en quantité variable selon le processus de production, pourraient être à l'origine de diverses perturbations du système immunitaire du receveur:

1. Les leucocytes pourraient libérer des constituants à action proinflammatoire, notamment des cytokines. La transfusion allogénique est associée à l'augmentation des concentrations dans le sérum et les tissus mous des interleukines 1 β , 6 et 8, ainsi que du TNF- α libérés dans le milieu par les leucocytes en raison de l'acidose et de la température de conservation. L'IL-8 libérée a été impliquée dans la leucocytose temporaire observée chez les patients transfusés en ICU (Izbicki et al., 2004). Globalement les leucocytes ont été incriminés dans des processus d'immunomodulation affectant les complications postopératoires chez des patients chirurgicaux. Les résultats enregistrés sont discordants, sauf pour les études menées sur des patients de chirurgie cardiaque, où l'immunomodulation aggraverait le SIRS induit par l'utilisation de la CEC - circulation extra-corporelle (Bilgin & Brand, 2008).

2. Les mêmes leucocytes conservés libéreraient également des enzymes cytotoxiques qui fragiliseraient les membranes érythrocytaires, générant des lipides bioactifs (lysophospholipides déjà cités, libérés des microparticules détachées par action de la phospholipase A2) qui induiraient un *neutrophil priming* lors de la transfusion avec une expression accrue de CD11b et CD16 et une activation de l'*oxydative burst* (Chin-Yee et al., 1998; Sparrow et al., 2004), ou auraient une action activatrice des plaquettes (Zimrin & Hess, 2009). Les lysophospholipides libérés pourraient aggraver une pathologie pulmonaire existante chez le receveur et intervenir dans la pathogénie du TRALI - *transfusion related acute lung injury* (Silliman et al., 1997; Silliman

et al., 2011). Il n'y a toutefois ni accord ni unanimité sur ces résultats. Selon Vlaar et al. (2011), ces lipides seraient d'origine plasmatique et non cellulaire.

3. Le taux d'hémolyse des CE est plus élevé quand ceux-ci ne sont pas déleucocytés (mécanisme par génération de radicaux libres suggéré).

4. La présence de leucocytes en quantité importante (concentrés non déleucocytés) ou de plaquettes augmente les niveaux de divers marqueurs des lésions de stockage tels que l'annexine V (Seghatchian et al., 2002).

5. Les leucocytes présents dans les concentrés montrent une expression modifiée de divers récepteurs de chimiokines en relation avec la réponse inflammatoire (Illoh et al., 2006).

6. Les leucocytes ont été incriminés dans la production de radicaux libres qui participeraient au processus d'hémolyse des érythrocytes conservés (Racek et al., 2001).

7. A contre-courant de la majorité des observations, Ran et al. (2011) observent que la déleucocytation aggrave les perturbations biochimiques caractéristiques des lésions de stockage.

3.2.2. Etude des hypothèses relatives à l'effet de la durée de conservation des concentrés érythrocytaires sur l'évolution clinique du patient transfusé

L'érythrocyte se modifie et se dégrade au cours de sa conservation mais l'impact clinique réel de ces modifications sur le patient transfusé est très contesté et les hypothèses physiopathologiques suggérées restent pour la plupart largement spéculatives:

1. Les modèles expérimentaux *in vitro* ne tiennent pas compte de la dilution, de la diffusion ou de la *clearance* des éléments et molécules transfusés. Ils ne prennent pas en compte non plus la complexité importante du milieu biologique du receveur. Concernant les perturbations immunitaires invoquées, il faut se rappeler que les mécanismes d'homéostasie et de défense des organismes supérieurs sont très complexes et font intervenir diverses boucles de contrôle dont la signification ne peut apparaître que si l'on considère l'ensemble des réactions.

2. Déformabilité: l'hypothèse d'un ralentissement de la microcirculation voire d'un blocage du à la rigidité des sphéroéchinocytes éventuellement aggravée par une adhésion à l'endothélium et une tendance à l'agrégabilité est plausible (Parthasarati et al., 1999) mais non prouvée *in vivo*. Les modèles expérimentaux utilisés sont contestables: utilisation récurrente d'érythrocytes très altérés, modèles mixtes homme-animal, anomalies observées uniquement en cas de transfusion de la totalité de la masse sanguine, etc. Les mécanismes adaptatifs de la microcirculation à l'hypoxie ne sont pas connus avec précision, les paramètres mesurés sont indirects (mesure de la pO₂ microvasculaire) et les organes ou tissus étudiés (muscle, tractus digestif) ne sont pas ceux où la gestion de l'hypoxie est critique, comme le rein, le cerveau et le cœur. Il est étonnant de constater que la réflexion sur la disponibilité tissulaire en O₂ se base sur les équations simplifiées du transport sanguin utilisées notamment en anesthésiologie, en ignorant l'importance de la régulation cellulaire de la consommation d'oxygène. Sans entrer dans des détails trop complexes, notons que la consommation cellulaire d'oxygène est dans une certaine mesure indépendante du transport sanguin d'oxygène et qu'elle ne sera affectée qu'en cas d'hypoxie forte et prolongée, sans compter l'existence de variations importantes selon le tissu concerné.

3. En ce qui concerne les érythrocytes utilisés dans les modèles expérimentaux, il est établi que les érythrocytes murins se dégradent très rapidement dans des solutions anticoagulantes développées pour les humains en ce qui concerne la baisse de la concentration d'ATP, la viabilité après transfusion et la diminution de déformabilité; le 2,3-DPG disparaît au même rythme que dans les érythrocytes humains mais n'est pas régénéré après transfusion chez le rat (d'Almeida

et al., 2000). Les études utilisent régulièrement des érythrocytes murins conservés depuis quatre semaines dans le CPD(A) sans solution de conservation ajoutée, ce qui est très long, et les observations recueillies dans ces conditions sont artificielles. Des études comparant divers modes de conservation ne montrent d'effet négatif significatif que dans des conditions extrêmes. Même dans des modèles mixtes contestables avec transfusion d'érythrocytes humains âgés dans un tissu murin, on observe néanmoins une augmentation du flux sanguin en situation d'hypoxie, même s'il semble que la distribution vasculaire soit plus hétérogène qu'avec des érythrocytes plus frais (Parthasarathi et al., 1999).

4. La baisse de concentration érythrocytaire en ATP et la paralysie métabolique associée sont réversibles après transfusion. Cette baisse de concentration est par ailleurs progressive et reste à un niveau significativement élevé même au terme du délai de conservation.

5. La libération de K^+ et de lactate ainsi que l'acidose des CE conservés longtemps n'auraient pas d'incidence pratique en pédiatrie car la normalisation du K^+ érythrocytaire après transfusion est effective en quelques heures (Keidan et al., 2004). Le K^+ libéré est supposé poser des problèmes cardiaques d'arythmies notamment en chirurgie cardiaque pédiatrique où l'on transfuse pour amorcer la CEC.

6. Les microparticules sont encore mal connues. Si on leur attribue souvent des propriétés globalement proinflammatoire et thrombogènes, il semble que certaines d'entre elles puissent avoir des activités protectrices de l'endothélium (sécrétion de NO, baisse de production de ROS et angiogenèse). Les microparticules pourraient donc représenter un groupe hétérogène (Greenwalt, 2006) et générer des messages moléculaires divers en situation normale ou pathologique (Meziani et al., 2008).

7. La disparition du 2,3-DPG au cours de la conservation est un processus réversible après transfusion: la récupération complète n'est observée qu'après 72 heures mais elle est néanmoins rapidement significative (de l'ordre de 25 à 30 % après 1 heure, de 50 % en 24 heures). On ne connaît pas les effets exacts *in vivo* de l'augmentation d'affinité pour l'oxygène des érythrocytes en état de déplétion. On peut aussi opposer *a priori* que le ralentissement de passage des érythrocytes dans la microcirculation accroît le temps disponible pour les échanges gazeux et puisse compenser l'effet présumé de la déplétion en 2,3-DPG. Dans une étude, la perte du 2,3-DPG n'altère que de 15 % la capacité d'érythrocytes murins conservés pendant 7 jours à libérer l'oxygène (d'Almeida et al., 2001). D'autres auteurs ne mesurent aucune différence (Raat et al., 2005). Une communication récente constate que la conservation s'accompagne d'un déplacement de la courbe de fixation de l' O_2 dans le sens d'une affinité accrue pour l'hémoglobine mais de manière non significative (Gelderman et al., 2010).

8. Il a été régulièrement affirmé que la conservation des CE provoquerait un *priming* de cellules immunocompétentes après transfusion, entraînant une réponse proinflammatoire (qu'elle soit attribuée aux érythrocytes, aux leucocytes ou au surnageant). Des auteurs constatent des effets plus complexes et nuancés avec des variations quantitatives de production de cytokines peu élevées (Weisbach et al., 1999) et des réponses immunitaires non univoques, aussi bien pro-qu'anti-inflammatoires, le surnageant d'érythrocytes conservés plus longtemps pouvant même ne générer qu'une réponse anti-inflammatoire (Mynster & Nielsen, 2001).

9. Expression accrue de molécules d'adhésion au cours de la conservation: la question est compliquée par le fait que, dans un même concentré, les jeunes et les vieux érythrocytes (au point de vue de l'âge médullaire) que l'on a séparés par centrifugation, évoluent différemment pendant la conservation quant à l'expression membranaire de déterminants de surface (GPA, CD44, CD58, CD47, CD 147, annexine V) mais aussi en fonction de la présence ou de l'absence de leucocytes (Sparrow & Healey, 2006).

10. Phosphatidylsérine: le transfert progressif de phosphatidylsérine (PS) vers le feuillet externe de la membrane cytoplasmique est considéré comme un marqueur de sénescence déclenchant *in fine* la phagocytose par les cellules de type macrophagique. Différents auteurs ont affirmé retrouver une expression accrue de la phosphatidylsérine au cours du stockage des érythrocytes, impliquant une séquestration splénique accrue des érythrocytes âgés et donc une diminution de l'efficacité transfusionnelle. Cette question est controversée et doit probablement être envisagée dans un cadre plus large. L'expression externe de la PS résulte d'un équilibre entre flippase (transfert de PS de l'extérieur vers l'intérieur) et scramblase d'action inverse. L'activité flippase diminue modérément pendant le stockage (60 % après 7 semaines), mais la scramblase reste inactive, ce qui explique que l'externalisation de la PS soit très faible; l'activité flippase est également restaurée à 100 % si la concentration en ATP et le pH sont corrigés (Verhoeven et al., 2006). La phagocytose est déclenchée dans un modèle *in vitro* par l'évolution en sphéroéchinocytes et pas par les signaux classiques de l'apoptose (Mitrofan-Oprea et al., 2007). Les mêmes auteurs notent également que le test de viabilité à la calcéine AM est normal contrairement à une cellule nucléée sénescence normale où ce test devient positif et précède l'externalisation de la PS, en n'observant ni production de ROS, ni désialylation significative, ni signaux β -galactose. Dans la même étude, le signal CD47 anti-phagocytose reste bien présent et l'externalisation de la PS est faible (6,6 % des érythrocytes âgés contre 3,1 % chez les érythrocytes frais non traités). En fait l'érythroptose est la phase ultime d'un processus apoptotique démarré dans la moelle et interrompu pendant la phase circulatoire de l'érythrocyte. Ainsi la phase finale ne met pas en jeu des caspases comme après une apoptose normale, mais des calpaïnes selon certains. Il y a d'importantes quantités de caspase 3 et 8 dans l'érythrocyte, mais inactives et inactivables *in vivo* en l'absence de noyau et de mitochondries (Berg et al., 2001). On constate une fixation accrue progressive de lectines anti-galactose au cours de la conservation, mais non corrélée à l'âge médullaire des érythrocytes (Sparrow et al., 2007). L'ensemble de ces arguments conforte l'hypothèse que la conservation des CE s'accompagne d'un processus d'altération différent du vieillissement physiologique de l'érythrocyte dans la circulation sanguine, et que la phosphatidylsérine n'y intervient pas de manière constante. Selon Bosman et al. (2011), l'externalisation de la phosphatidylsérine serait causée par un stress (osmotique ou énergétique), la durée de conservation accroissant la sensibilité des érythrocytes au stress.

11. Les groupes nitrosothiol et la synthèse de NO (oxyde nitrique): la constatation du relargage de groupes nitrosothiol (-SNO) en position Cys- β 93 de l'hémoglobine après la libération de l'oxygène fixé à l'hème, avec génération de NO, a fait naître l'hypothèse d'un mécanisme de régulation du tonus vasculaire par l'hémoglobine elle-même. Comme ces groupes -SNO disparaissent très rapidement au cours de la conservation des CE, il a été proposé que la transfusion sanguine pourrait s'accompagner d'un déficit de la régulation du tonus vasculaire (Bennett-Guerrero et al., 2007). Sans entrer dans les détails d'un système extrêmement complexe faisant intervenir des équilibres et réactions chimiques encore mal connus entre divers oxydes d'azote et molécules réductrices (Lauer et al., 2001; McMahon et al., 2002; Schechter & Gladwin, 2003; Dejam et al., 2004; Dejam et al., 2005; Crawford et al., 2006; Kleinbongard et al., 2006; Lahiri et al., 2006; Bonaventura et al., 2007; Gladwin & Kim-Shapiro, 2008; Winslow & Intaglietta, 2008; Mihov et al., 2009) nous nous bornerons à dire qu'en l'état actuel des connaissances il n'y a pas lieu de comprendre la libération des groupes nitrosothiol de l'hémoglobine autrement que comme un déplacement d'équilibre chimique sans relation avec le tonus vasculaire, ou comme simple modulateur accessoire dans la génération de NO à partir de groupes nitrites (Crawford et al., 2006; Isbell et al., 2008). Signalons simplement que les groupes -SNO de l'hémoglobine nécessitent plusieurs heures pour se reconstituer après transfusion alors que la capacité vasodilatatrice est déjà restaurée (Zimrin & Hess, 2009), et que des souris transgéniques dont la Cys- β 93 est remplacée par une alanine conservent leur capacité de vasodilatation en réponse à un stress hypoxique.

12. Si plusieurs auteurs constatent une dégradation de l'oxygénation tissulaire suite à la transfusion de CE âgés dans des modèles animaux, des études ne montrent pas de différences

cliniques en fonction de la durée de conservation sur l'oxygénation cérébrale évaluée par un test neurocognitif (Weiskopf et al., 2006) ou sur l'oxygénation tissulaire de patients en soins intensifs (Walsh et al., 2004). *In vitro*, la capacité d'érythrocytes humains à lier puis relarguer l'oxygène est conservée jusque 42 jours de conservation en conditions standard en dépit d'un léger *left shift* de la courbe (Gelderman et al., 2010).

Conclusion

En résumé il n'existe pas aujourd'hui de support expérimental suffisant ou univoque pour la grande majorité des facteurs invoqués. Les modifications métaboliques sont le plus souvent réversibles ou d'effet limité. La proposition d'une altération rhéologique n'a guère reçu de confirmation générale *in vivo* chez l'homme dans les conditions de transfusion normale. L'hypothèse inflammatoire est intéressante mais reste en développement suite à de nouveaux faits expérimentaux. Nous ajouterons en prélude à la discussion sur les études cliniques que seule une minorité des patients transfusés est exposée à des CE de longue conservation (Raaf et al., 2005).

3.2.3. Les études cliniques relatives aux lésions de stockage

La conclusion de l'étude clinique de Koch et al. (2008) mise sur pied à grande échelle a été relayée à foison par les médias (« *Old blood can kill you !* ») mais immédiatement critiquée par de nombreux experts (AABB, 2008; Adamson, 2008; BEST, 2008; CBBS, 2008; HHS, 2008) et un grand nombre de lettres avait en conséquence été adressé à la revue (Benjamin & Dodd, 2008; Fenzel et al., 2008; Habib & Zacharias, 2008; Hall, 2008). En effet, les connaissances acquises concernant la dégradation des érythrocytes durant le stockage (*storage lesion*) et son impact clinique possible a déjà fait l'objet de nombreuses revues et revues systématiques (Tinmouth & Chin-Yee, 2001; Vamvakas, 2002; Ho et al., 2003; Vamvakas, 2003; Marik, 2004; Muñoz et al., 2004; Solheim et al., 2004; Elfath, 2006; Tinmouth et al., 2006; Almac & Ince, 2007; Hébert et al., 2007; Shehata et al., 2007; Vamvakas, 2007; Dzik, 2008; van de Wating & Brand, 2008; Weinberg et al., 2008b; Kor et al., 2009; Lelubre et al., 2009; Zimrin & Hess, 2009; Vandromme et al., 2009; van de Wating, 2009; Liumbardo & AuBuchon, 2010; Triulzi et al., 2010; Vamvakas, 2010; Zubair, 2010; Pavenski et al., 2011; van de Wating, 2011; Weinberg et al., 2011; Wilkinson et al., 2011). Finalement, une méta-analyse a été publiée (Vamvakas, 2010) concluant qu'après intégration de résultats ajustés de 22 études observationnelles aucun effet préjudiciable ne peut être mis en évidence. Néanmoins, étant donné le petit nombre d'études homogènes entre elles, l'auteur a déjà ré-analysé les résultats en chirurgie cardiaque consécutivement à la publication de deux nouvelles études adéquates (Vamvakas, 2011).

La diversité des conditions de réalisation des études connues empêche une discussion comparative individuelle fructueuse. En effet, les renseignements fournis sont parfois lacunaires, les pathologies étudiées et les *endpoints* utilisés sont multiples, les conditions d'inclusion et d'exclusion varient fortement, de même que les paramètres cliniques et biologiques intervenant dans la comparaison des groupes. Des différences de traitement statistique importantes sont également constatées. Les études sont échelonnées sur une vingtaine d'années, or les changements technologiques peuvent faire évoluer la notion de patients à risque, notamment en chirurgie cardiaque, sans compter l'intervention de changements techniques tels que la déleucocytation. En chirurgie cardiaque, les techniques d'intervention à cœur battant se sont développées, et elles se différencient nettement de la chirurgie classique sous CEC, qu'il s'agisse du profil pathologique des patients ou des processus d'inflammation systémique.

Ce sujet sera donc abordé, à l'exception de l'étude de Koch et al. (2008) qui mérite un examen particulier vu son importance et son effectif de patients élevés. D'autre part, il n'y a pas lieu au départ de distinguer les patients de chirurgie cardiaque des autres dans l'examen de la validité des études entreprises. L'approche spécifique de ces patients sera abordée plus loin dans le

texte. Le Tableau 1 reprend les données de base des études publiées ou en cours à l'exception de l'étude de Basran et al. (2006) rétractée en 2009. Le Tableau 2 reprend les données de base relatives à la chirurgie cardiaque.

Tableau 1. Synoptique des résultats généraux.

Les chiffres du tableau indiquent le nombre d'études ayant conclu à un résultat donné, soit la présence (S) soit l'absence (NS) d'une association statistiquement significative entre le paramètre étudié (en ordonnée) et la durée de conservation des concentrés érythrocytaires. Seules les issues cliniques utilisées dans plus d'une étude ont été reprises (cf. Tableaux 3 et 4).

	Rétrospectif		Prospectif		RCT		TOTAL	
	S	NS	S	NS	S	NS	S	NS
Mortalité	6	8	2	5		4	8	17
Durée hospitalisation	2	7	2	2	1	1	5	10
Perte de sang postopératoire					2	1	2	1
Défaillance rénale	2	1	1	1			3	2
Durée ventilation		1		1	1		1	2
Morbidité	1		1				2	0
Infection	4	2	2	3		1	6	6
Pneumonie	1	2	1	1			2	3
Oedèmes pulmonaires				2		1	0	3
VO ₂ systémique				2			0	2
Oxygénation			1	2			1	2
MODS	2	1	2			2	4	3
TOTAL	18	22	12	19	4	10	33	51

Tableau 2. Synoptique des résultats en chirurgie cardiaque.

Les chiffres du tableau indiquent le nombre d'études ayant abouti à un résultat donné, présence (S) ou absence (NS) d'une association statistiquement significative entre le paramètre étudié (en ordonnée) et la durée de conservation des concentrés érythrocytaires. Seules les issues cliniques utilisées dans plus d'une étude ont été reprises (cf. Tableaux 3 et 4).

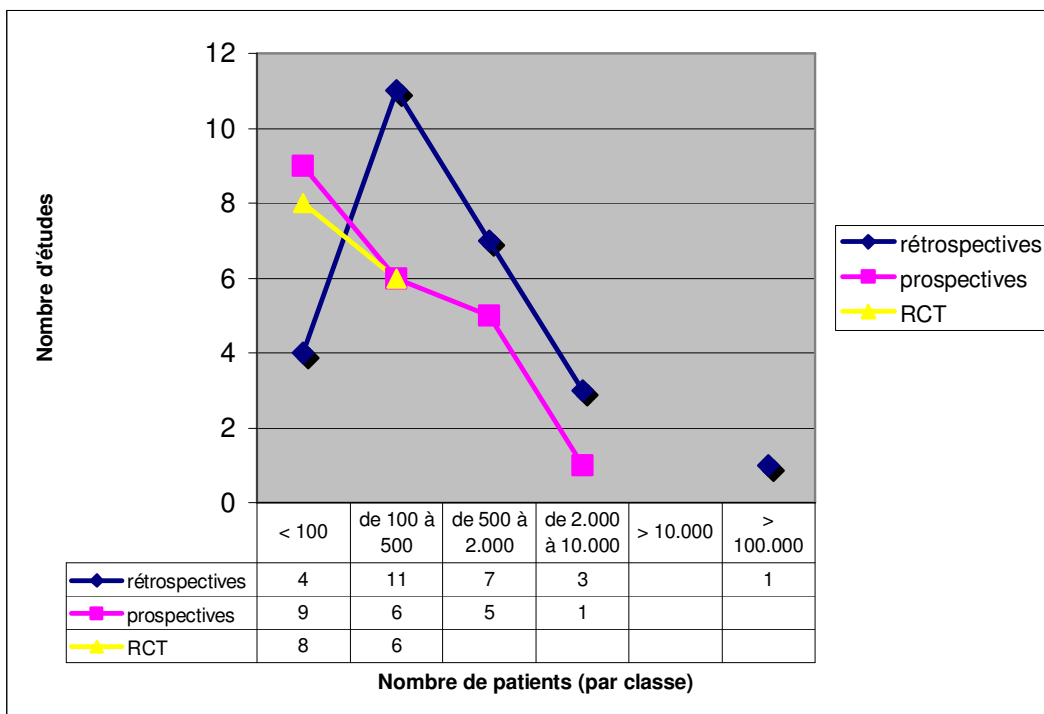
	Rétrospectif		Prospectif		RCT		TOTAL	
	S	NS	S	NS	S	NS	S	NS
Mortalité	3	3	1	2			4	5
Durée hospitalisation		3	1	1	1	1	2	5
Perte de sang postopératoire					2	1	2	1
Défaillance rénale	1	1	1	1			2	2
Durée ventilation		1		1	1		1	2
Morbidité	1		1				2	0
Infection	2	1		1		1	2	3
Pneumonie		2	1	1			1	3
TOTAL	7	11	5	7	4	3	16	21

3.2.3.1. Etudes publiées

Le nombre d'études recensées dans cet avis et publiées entre 1984 et 2011, est de 65 dont 26 sont rétrospectives (40 %), 21 prospectives (32,3 %), et 18 de type RCT (27,7 %) (cf. Tableau 3 et Tableau 4). Parmi les RCT, 4 sont en cours et une n'a pas été publiée en intégralité. Le nombre de patients inclus dans les études est généralement faible, particulièrement pour les RCT (Figure 1). Le recensement n'est pas nécessairement exhaustif. Une étude comparative détaillée a été récemment publiée (Triulzi & Yazer, 2010).

Figure 1. Recrutement des patients selon le type d'étude (cf. Tableaux 3 et 4).

NB. 4 RCT sont en cours de recrutement et ne figurent pas sur ce graphe.



Parmi ces études, celles qui concernent la chirurgie cardiaque sont au nombre de 20, dont 10 rétrospectives, 4 prospectives et 6 RCT; sur ces 6 RCT, 1 concerne les nouveau-nés et 2 sont en phase de recrutement; à noter que les 4 RCT déjà publiées comprennent des effectifs de patients très réduits (33, 161, 200 et 237) (cf. Tableau 4).

Les études n'ayant pas trait à la chirurgie cardiaque concernent de multiples cadres cliniques: patients en ICU, patients en état de sepsis, traumatismes d'intensité variable, cancer colorectal, etc.

Il n'est pas possible de donner des chiffres précis concernant la déleucocytation, soit par absence de renseignements, soit parce qu'il y a eu une utilisation mixte et variable de concentrés des deux types. Parmi les études autres que les RCT, la répartition entre les deux types est approximativement égale pour les études prospectives, alors qu'une majorité d'études rétrospectives utilise des concentrés non déleucocytés. Parmi les RCT, seule une très ancienne utilise des concentrés non déleucocytés (Manno et al., 1991).

Les critères cliniques ou biologiques retenus — plusieurs critères possibles par étude (cf. Tableau 1) — sont la mortalité (25 études, soit 38,5 %), la durée d'hospitalisation (15 études, soit 23 %), les infections en général (12 études, soit 18,5 %), la défaillance polyviscérale (7 études, soit 10,8 %), la pneumonie (5 études, soit 7,7 %), la défaillance rénale (5 études, soit 7,7 %), l'oxygénation cérébrale, la VO_2 , la variation de pH, les pertes de sang, la récurrence de cancer, le TRALI, la thrombose veineuse profonde (TVP), la perfusion capillaire, la morbidité en général, la récupération post-transfusionnelle et la durée de ventilation.

3.2.3.2. Analyse des résultats

1. Difficultés techniques spécifiques: en matière de transfusion, les études cumulent des difficultés spécifiques aux difficultés de base communes à tous les essais cliniques, contribuant à un affaiblissement de la signification des résultats enregistrés:

- Il existe des difficultés particulières de financement, rendant difficile la mise sur pied d'études comprenant un effectif de patients suffisant pour garantir une robustesse statistique suffisante.
- Les patients transfusés présentent régulièrement une morbidité élevée et complexe, créant ainsi de nombreux facteurs de confusion statistiques. En raison de cette morbidité souvent aiguë, il est difficile de suivre le protocole strict d'une étude prospective contrôlée car la décision transfusionnelle dépend de critères cliniques et biologiques et, il n'est pas concevable de randomiser une étude prospective comme on le fait dans le cadre pharmacologique habituel. La décision de transfuser ou non ne pouvant être imposée par un processus d'attribution, une étude prospective sera confrontée au sort statistique à réserver aux patients non transfusés: sortie de l'étude et création d'un biais au moins théorique, ou respect du principe de *l'intention to treat* avec réduction corrélée des *odds ratios*.
- Les études portant sur les lésions de stockage constituent en quelque sorte un sous-groupe des études générales sur les effets de la transfusion, il est donc attendu que la valeur statistique des résultats obtenus ne soit guère éloignée à protocole comparable. Or l'expérience passée a montré une grande difficulté dans l'interprétation des résultats des études relatives à la transfusion.
- Il est difficile de comparer les différentes études en raison de la diversité des modes de préparation des concentrés (déleucocytés ou non, solutions de conservations diverses).
- La corrélation régulièrement observée dans les *crude data* entre transfusion et morbi-mortalité ne peut être interprétée directement, car les quantités de concentrés transfusés sont globalement corrélées avec l'état clinique du sujet: plus la morbidité du sujet est élevée, plus il a de chances d'être transfusé, et de recevoir davantage de CE. Cette relation a été confirmée par une revue de la littérature depuis 2006 (Reeves et al., 2008).

Pour ces raisons, les études cliniques publiées relatives au problème des lésions de stockage sont majoritairement de type rétrospectif, avec les limitations connues de ce type d'étude, auxquelles s'ajoutent encore d'autres limitations spécifiques à la transfusion (van de Watering & BEST, 2011): il n'existe pas de choix possible de l'âge des CE dans une étude rétrospective, il en résulte donc que les patients reçoivent un mélange de poches d'âge variable, les lois de la probabilité faisant que peu de patients dans la cohorte étudiée auront reçu soit exclusivement des concentrés très jeunes, soit à l'inverse des concentrés très âgés. Le fait que la majorité des études soit rétrospective implique aussi qu'on ne peut privilégier un mécanisme physiopathologique déterminé et rechercher les conditions cliniques qui seraient susceptibles de le mettre en évidence.

2. Résultats globaux: si l'on considère l'ensemble des études cliniques consacrées aux effets des lésions de stockage, les auteurs ne retrouvent pas dans leur majorité d'association statistiquement significative entre la durée de conservation des CE et les paramètres cliniques retenus tels que mortalité, durée de séjour en ICU, durée d'assistance ventilatoire et défaillance d'organes. Quand une étude rapporte une relation statistiquement significative, les différences mesurées sont le plus souvent faibles, au moins dans l'absolu (Koch et al., 2008). Si l'on considère que les études récentes sont supposées tenir compte des limitations des études antérieures, il n'est toutefois pas indifférent de constater que les études les plus récentes sont plus nombreuses que les anciennes à trouver une association positive.

3. Résultats en chirurgie cardiaque: les études consacrées aux patients de chirurgie cardiaque peuvent être replacées dans le cadre général et on ne constate pas de différences de fond entre les études consacrées à la chirurgie cardiaque et les autres (Triulzi & Yazer, 2010). L'étude de

Koch et al. (2008), la plus importante à ce jour, a déjà été abondamment commentée (voir 3.2.). La chirurgie cardiaque présente toutefois quelques caractéristiques spécifiques en rapport avec l'utilisation de la CEC: la mise en place d'une circulation extracorporelle crée en effet une situation proinflammatoire qui peut aggraver la réponse inflammatoire normale de la chirurgie cardiaque. Cette réponse comporte deux composantes principales, une liée à l'activation inflammatoire, l'autre à la libération d'hormones de stress. Les activateurs non spécifiques de cette réponse systémique sont le traumatisme chirurgical, les pertes sanguines, la transfusion et l'hypothermie. La CEC déclenche ou aggrave l'inflammation par l'activation de contact, l'ischémie et la *reperfusion injury* (clampage de l'aorte) auxquels on peut ajouter une endotoxémie systémique à partir de l'intestin. La réponse systématique est variable, allant d'un SIRS modéré au syndrome de défaillance polyviscérale (MODS). Alors que les études randomisées sur le rôle possible des leucocytes transfusés (concentrés non filtrés) donnent en général des résultats discordants (Vamvakas & Blachjman, 2007; Englehart et al., 2009; Bilgin et al., 2010; Rosenbaum et al., 2011) elles sont plus conclusives pour la chirurgie cardiaque (*endpoint*: complications postopératoires associées avec une hausse de mortalité) (STS Workforce on Evidence Based Surgery, 2011). Vamvakas (2007) relève ainsi que les RCT relatives à la chirurgie cardiaque montrent une augmentation de la mortalité à court terme en cas d'utilisation de concentrés non déleucocytés, alors que les autres RCTs ne montrent aucune différence.

4. Les études positives: les études ayant mis en évidence une association entre l'âge de conservation des érythrocytes transfusés et une évolution clinique défavorable ont été régulièrement critiquées pour différents motifs, variables d'une étude à l'autre (pour une revue, voir Zimrin & Hess, 2009):

- Les effectifs de patients sont généralement faibles, le plus souvent de l'ordre de quelques centaines de patients, ce qui en limite la puissance statistique et rend davantage possible l'intervention du hasard ou d'un déséquilibre entre les cohortes dans le résultat de l'étude.
- De nombreuses études, en particulier les plus anciennes, ne pondèrent pas les résultats en fonction du nombre de concentrés reçus par les patients. Or la mortalité augmente statistiquement avec le nombre de concentrés transfusés, l'explication proposée étant qu'un patient a d'autant plus de chance de recevoir des transfusions que son état clinique est compromis (Engoren et al., 2002; Dessertaine et al., 2008; van de Watering & Brand, 2008). D'autre part, les lois des probabilités indiquent que plus un patient reçoit de concentrés, plus il va recevoir de concentrés âgés (van de Watering & Brand, 2008). L'association constatée entre durée de conservation et pronostic clinique serait donc indirecte, sans lien de nature causale.
- On constate une absence d'analyse multivariée, partielle ou totale dans plusieurs études.
- Dans leur majorité, les études sont unicentriques.
- Les cohortes de patients sont souvent hétérogènes au point de vue âge, morbidité et risque.
- La stratification des patients selon l'âge des concentrés transfusés fait apparaître des différences très importantes entre les études et la pertinence de certains choix est discutable. Certains auteurs utilisent la durée de conservation moyenne des concentrés transfusés, d'autres établissent des classes d'âges divers, d'autres privilégient l'âge du concentré le plus âgé, supputant que les plus âgés sont les plus dangereux. Spinella et al. (2009) défendent cette idée en postulant qu'il suffirait d'un ou deux concentrés conservés plusieurs semaines pour avoir un effet. On peut se demander aussi si cette diversité de choix n'est pas artificielle, l'auteur pouvant privilégier la configuration qui donne un résultat positif sinon souhaité.
- Le nombre de critères cliniques étudiés se révèle souvent très élevé, ce qui implique que l'un deux puisse se révéler positif par le seul fait du hasard (en fonction du p retenu comme étant significatif); selon Dzik (2008), l'une des solutions les plus simples dans ce cas consiste à diviser le p retenu par le nombre de critères étudiés; si l'on applique cette technique à l'étude de Koch et al. (2008), toutes les corrélations observées s'annulent, à l'exception du temps d'intubation.
- Etudes pédiatriques : le nombre de concentrés transfusés n'est pas ici uniquement corrélé à la gravité clinique, mais aussi à l'âge de l'enfant et à son poids; comme la probabilité de recevoir des concentrés âgés augmente avec le nombre de concentrés transfusés, on obtient des

différences objectives importantes entre les deux groupes, par exemple 37 mois et 15 kg pour les enfants en PICU recevant des concentrés de moins de 14 jours, contre 77 mois et 26 kg pour ceux recevant des concentrés plus âgés (Karam et al., 2010).

- Les multiples techniques statistiques de correction (*propensity scores, logistic regression analysis*) destinées à corriger l'effet des facteurs de confusion peuvent n'avoir qu'un effet correctif partiel du à l'existence de facteurs non identifiés et au caractère approximatif des corrections.

- Il est possible que les études positives bénéficient d'une surreprésentation, à la fois en termes de citation et de diffusion, en bénéficiant d'un avantage pour l'acceptation des textes par les revues.

- La connotation positive associée à la notion de « fraîcheur » peut être psychologiquement importante (Dzik, 2008): si le chercheur ressent intuitivement que ce qui est frais est meilleur, il pourrait chercher à le prouver. On utilise ainsi dans certaines institutions à l'étranger du sang total frais pour limiter les effets inflammatoires et procoagulants de la CEC en chirurgie cardiaque chez les nouveau-nés. Selon certains, cette politique n'a pas d'effets positifs et pourrait même se révéler préjudiciable dans certains cas (Mou et al., 2004).

- Van de Watering a relevé (van de Watering & Brand, 2008; van de Watering, 2011) que 95 % des associations statistiquement significatives sont le fait d'études nord-américaines, contre 5 % issues d'études européennes, ce qui suggère l'existence d'un biais quelconque. Il suggère toutefois que cette différence curieuse puisse être attribuée à des différences dans les modes de préparation et de conservation des concentrés, ce qui a effectivement déjà été documenté (hématocrite, taux d'hémolyse, d'ATP, de 2,3-DPG, saturation en oxygène, libération d'interleukines dans le surnageant). Si c'est exact, cela reviendrait toutefois à admettre que la qualité de conservation peut modifier le pronostic clinique et par conséquent que la durée de conservation pourrait être un facteur de pronostic négatif. Une autre explication serait que les seuils transfusionnels (*triggers*) sont davantage respectés en Amérique du Nord qu'en Europe, et que les patients transfusés y sont en moyenne dans un état clinique davantage compromis ce qui permettrait de mettre en évidence un rôle délétère de la transfusion de concentrés âgés.

- Comme plusieurs modèles expérimentaux suggèrent l'intervention d'une composante inflammatoire dans les lésions de stockage, il apparaît dès lors logique de séparer dans les études en chirurgie cardiaque les patients opérés sous CEC ou à cœur battant, et ce d'autant que le choix de la technique opératoire dépend entre autres de facteurs cliniques et de la morbidité du patient. Cette distinction n'apparaît guère dans les études connues, or les interventions à cœur battant représentent actuellement environ 20 % des cas.

- Le clinicien serait plus enclin à trouver des résultats positifs par souci de protection du patient, le professionnel de la transfusion aurait intérêt à l'inverse à ne pas en trouver pour garantir la gestion des stocks.

5. Les études positives en chirurgie cardiaque: au-delà des restrictions déjà exposées, deux des principales études ayant abouti à la conclusion par leurs auteurs respectifs d'une mortalité accrue en fonction de l'âge des concentrés chez des patients de chirurgie cardiaque ont fait l'objet de contestations sérieuses, au-delà des critiques de principe adressables aux études en général:

- L'article de Basran et al. (2006) a été finalement rétracté, en raison d'erreurs notables dans les tableaux de résultats (limites d'intervalles de confiance irréalistes) qui n'ont pu être corrigées, l'auteur rapportant ayant égaré le *dataset* expérimental;

- L'étude de Koch et al. (2008) a été l'objet de plusieurs critiques de fond:

- Si la courbe de distribution du nombre de concentrés transfusés est globalement comparable pour les deux bras de l'étude, on note que les patients les plus transfusés l'ont été très majoritairement avec des concentrés plus âgés: or c'est dans cette catégorie de patients que l'on enregistre normalement la mortalité la plus élevée.
- Il existe une différence importante dans les groupes ABO des patients des deux bras de l'étude. Ceci s'explique par le fait que l'étude est rétrospective et que l'âge moyen de délivrance par les centres de transfusion varie selon le groupe ABO: les plus demandés (O) sont transfusés à une durée de conservation faible, alors que les autres (A, et surtout B) le sont plus tardivement. Or, les groupes O, du fait de l'absence d'expression de fucosyl-transférase ont une activité diminuée du facteur de von Willebrand, c'est-à-dire un risque théorique de saignement accru et d'accident thromboembolique réduit par rapport à un patient de groupe A ou B. Les patients qui ont reçu les concentrés les plus frais, majoritairement de groupe O, étaient peut être moins susceptibles de complications thromboemboliques. Les syndromes coronariens sont plus extensifs chez les patients de groupe A que chez les patients de groupe O (Ketch et al., 2008). D'autre part, si les patients O ont une tendance au saignement augmentée, ils ont peut être également reçu davantage de concentrés que les autres, ce qui fausserait la comparaison des courbes de distribution dans les deux bras de l'étude.
- Les conclusions sont basées partiellement sur des variables non ajustées (courbe de survie Kaplan Meier).
- Il existe des différences nettes de morbidité entre les deux groupes, portant sur des paramètres significatifs (fonction ventriculaire gauche, vasculopathies périphériques, régurgitation mitrale).
- Les patients ayant reçu des concentrés plus âgés ont été opérés plus récemment que les autres, ils ont donc reçu une proportion beaucoup plus importante de concentrés déleucocytés. Il est possible également que l'on ait recruté davantage de patients à haut risque ces dernières années en fonction de l'évolution des techniques.
- Les différences d'évolution clinique mesurées entre les deux groupes sont finalement faibles dans l'absolu (mortalité, durée d'intubation, insuffisance respiratoire, insuffisance rénale, MOF).
- La question du nombre élevé de paramètres a déjà été citée ci-dessus.
- Dans leur réponse à la critique de Hall (2008), les auteurs signalent qu'un pourcentage de patients avait reçu des CE sans groupage sanguin. Ce pourcentage est identique à la différence sur la courbe de survie Kaplan Meier, non ajustée.

- Malgré qu'elles ajustent pour de nombreux facteurs de confusion, deux études rétrospectives plus récentes (Ranucci et al., 2009; Andreassen et al., 2011) ont trait à des CE qui n'ont pas été déleucocytés. Le résultat rapporté par Ranucci et al. (2009) n'a en outre pas pu être observé chez les patients transfusés *après* l'amorçage de l'intervention chirurgicale.

- Une petite étude observationnelle récente (Sanders et al., 2011) montre une corrélation entre la durée de conservation des érythrocytes et la durée du séjour hospitalier ainsi que l'apparition de lésions rénales chez des patients de chirurgie cardiaque. Le faible effectif de patients affecte la puissance statistique de l'étude, et des différences très marquées entre les bras (âge et scores de pronostic clinique) en limitent l'intérêt et la validité.

- Les études d'Edgren et al. (2010) et d'Eikelboom et al. (2010) ont été analysées de manière adéquate et incorporées dans la mise à jour de la méta-analyse de Vamvakas (2010) relative à la chirurgie cardiaque. L'intégration de quatre études ajustées pour le nombre de CE transfusés ne montre pas d'augmentation de la mortalité des patients en relation avec la durée d'entreposage (Vamvakas, 2011).

6. Les études négatives: les études n'ayant pas constaté de différence selon que les patients ont été transfusés avec des concentrés fraîchement collectés ou conservés de longue date sont

également critiquables, parfois pour les mêmes raisons que celles qui ont obtenu des résultats inverses:

- Les différences de durée de conservation des concentrés entre les bras de l'étude sont souvent faibles.
- Les concentrés transfusés sont généralement globalement peu âgés.
- Le résultat peut être affecté par le poids statistique excessif des transfusions de faible volume (1 ou 2 concentrés).
- Les effectifs des patients retenus dans les études sont souvent réduits, engendrant un manque de puissance statistique qui affecte toutes les études connues. Dans une étude relative à l'intérêt de la transfusion péri-opératoire en chirurgie de prothèse, il a été calculé qu'en dépit d'un effectif de patients important (8.787 participants), une différence de mortalité de 25 % entre les deux bras de l'étude pourrait ne pas être détectée (Carson et al., 1998). Les auteurs estiment qu'une différence de l'ordre de 10 % combinée à une puissance statistique de 80 % aurait nécessité un nombre de patients dix fois supérieur, soit près de 90.000 patients. Par comparaison, l'étude de Koch et al. (2008), la plus importante à ce jour en matière de lésions de stockage, ne compte que 6.000 patients environ. Une autre estimation relative à la mesure de la mortalité en chirurgie cardiaque, aboutit à des chiffres très voisins, chiffrant le coût d'une étude de type RCT dans ces conditions entre 18 et 21 millions de US dollars (Steiner & Stowell, 2010).
- On peut suspecter dans certains cas une sélection de patients à faible risque en vue de faciliter l'étude et limiter le nombre de facteurs de confusion.
- Les études publiées ne sélectionnent pas les patients en fonction d'une hypothèse physiopathologique précise. Un éventuel effet négatif pourrait dès lors ne pas être mis en évidence par l'analyse statistique s'il ne devait concerner qu'une fraction plus ou moins réduite de l'effectif des patients.
- Choix des *endpoints*: le choix de critères de mortalité voire de durée de séjour en ICU n'est peut être pas pertinent. En effet, si le critère de mortalité est un critère psychologiquement fort vis-à-vis du corps médical, si les populations à transfuser sont des populations globalement à risque où le risque mortel est un enjeu réel, et s'il s'agit d'un critère robuste et peu discutable en soi, c'est aussi une issue lourde c'est-à-dire peu adéquate pour mesurer des effets pathologiques d'intensité modérée et c'est un critère trop indirect, l'intervention de l'équipe médicale pouvant modifier l'évolution clinique. Il vaudrait mieux sélectionner dans un premier temps des critères biochimiques ou des *endpoints* cliniques plus ciblés comme l'insuffisance rénale ou des mesures d'insuffisance vasculaire. Or précisément, les études rétrospectives, les plus nombreuses, conduisent à privilégier le critère de mortalité, faute d'information suffisante sur le déroulement précis des transfusions des patients inclus dans l'étude. Ces études étant plus commodes à mener, elles permettent d'inclure un grand nombre de patients, ce qui leur confère une plus grande signification, alors que le critère de mortalité peut être inadéquat dans leur cas.
- Il est curieux de constater que la question de l'efficacité de la transfusion n'est pas abordée dans les discussions relatives à l'influence de l'âge des concentrés. Il faut remarquer que l'impact négatif possible des érythrocytes longuement conservés est attribué largement à une limitation de la délivrance d'oxygène moléculaire aux tissus. Or les transfusions sont prescrites aujourd'hui majoritairement dans une optique préventive des complications cardio-vasculaires et, en l'absence de critère transfusionnel objectif, on transfuse un grand nombre de patients pour en protéger une minorité. Si le patient, au moment de la transfusion, n'a pas besoin d'une capacité oxyphorique supérieure, le fait que la transfusion soit efficace ou non ne modifiera pas son pronostic clinique. Ceci impliquerait que chaque bras d'une étude pourrait inclure une proportion plus ou moins importante de patients qui, n'étant pas susceptibles de voir leur statut clinique affecté par la transfusion, dilueront les résultats de l'étude et contribueront à abaisser les *odds ratios*.
- Un dernier point est commun à toutes les études mais pourrait avoir un impact particulier dans les études négatives: les perturbations invoquées susceptibles d'altérer la fonction érythrocytaire sont généralement transitoires, avec des cinétiques de régularisation globalement de l'ordre de 0 à 72 heures (inflammation et médiateurs solubles, ATP, 2,3-DPG, déformabilité,

etc.). Il apparaît logique d'en déduire que la fréquence des transfusions pourrait jouer un rôle, ce que ne prend en compte aucune étude.

Conclusion

En résumé, aucune étude clinique publiée et non contestée n'apporte d'éléments convaincants pour permettre d'affirmer que la transfusion de CE de longue durée de conservation puisse influencer négativement l'évolution clinique des patients, en chirurgie cardiaque comme dans les autres situations cliniques. La majorité des essais, tous cadres cliniques confondus, ne constatent pas de différence significative et les études donnant des résultats contraires présentent des lacunes suffisantes pour que l'on doive apprécier leurs résultats avec prudence. Toutefois les difficultés pratiques, techniques et méthodologiques dans le domaine transfusionnel sont telles qu'elles suffisent à empêcher la mise en évidence d'un effet clinique significatif même si celui-ci devait être réel. Le fait de ne pas mettre en évidence de relation statistique ne doit donc certainement pas être interprété comme une absence d'effet.

3.2.4. Etudes en cours et perspectives

Plusieurs études cliniques contrôlées consacrées notamment à la chirurgie cardiaque sont aujourd'hui annoncées ou entreprises (voir Tableau 4):

ABC-PICU: étude internationale (USA & Canada) multicentrique de supériorité portant sur plus de 1.500 enfants en soins intensifs, recevant soit des concentrés de moins de 7 jours, soit des concentrés selon les procédures habituelles; *endpoints*: apparition ou aggravation de MODS à 28 jours; mortalité. Cette étude en préparation est coordonnée par les investigateurs ABC (*Anemia and Blood Transfusion in Critical Care*).

ABLE: étude canadienne multicentrique, devant regrouper 2.500 patients adultes en soins intensifs; comparant la transfusion de CE de moins de 8 jours à celle de CE distribués selon la procédure standard; *endpoints* primaires: mortalité et morbidité à 90 jours.

ARIPI: étude canadienne portant sur 377 prématurés, recevant soit des concentrés de moins de 7 jours, soit des concentrés selon les procédures habituelles; *endpoints*: mortalité à 90 jours et défaillance d'organes au même terme.

RCSDOCS: étude étasunienne monocentrique consacrée à 2.800 patients de chirurgie cardiaque transfusés à l'aide de CE de moins de 14 jours ou de plus de 20 jours; *endpoint*: morbidité postopératoire.

RECESS: étude étasunienne multicentrique sur 1.800 patients de chirurgie cardiaque transfusés à l'aide de CE de moins de 10 jours ou de plus de 21 jours; *endpoint*: syndrome de défaillance polyviscérale (MODS).

Parallèlement, le NHLBI (*National Heart, Lung, and Blood Institute*) conduira des études concernant la recherche de base sur les microparticules et les diverses molécules potentiellement immunomodulatrices ou proinflammatoires, le NO et son *scavenging*.

Ces études paraissent critiquables *a priori* sur plusieurs points: les effectifs de patients sont encore limités ce qui est pénalisant notamment dans le cas de cohortes hétérogènes (ABLE), aucune étude ne semble privilégier un mécanisme causal particulier, les différences de durée de conservation sont soit limitées, soit discutables. Compte tenu des procédures de fabrication spécifiques des concentrés en usage en Amérique du Nord et d'un usage possible d'une déleucocytation directement pré-transfusionnelle (*bedside*), les conclusions qui en seront tirées

ne pourront pas nécessairement être applicables aux autres contrées, dont l'Europe. Enfin des contraintes financières pèseraient sur certaines d'entre elles et compromettraient leur réalisation (Zimrin & Hess, 2009).

Pour se placer dans les meilleures conditions possibles pour mettre en évidence l'influence possible de la durée de conservation des CE, il paraîtrait logique de vouloir comparer des concentrés d'âge de conservation le plus différent possible. Cette proposition apparaît éthiquement inacceptable à certains, notamment pour les patients à risque, dans la mesure où la transfusion exclusive de CE très âgés dans un bras de l'étude constitue un traitement de qualité inférieure à la situation actuelle où les patients reçoivent le plus souvent un mélange de CE d'âge divers. On peut objecter à cette position l'absence de preuve actuelle d'un effet négatif de la durée de conservation, le fait qu'aujourd'hui tous les CE soient légalement transfusables jusqu'à leur date de péremption, et que la transfusion de concentrés frais présente des désavantages connus: moindre qualité du thrombus en hémostase (Roeloffzen et al., 2010), incidence et risque accrus de transmission d'agents infectieux, de microchimérisme et de GvHD. Il s'agit là toutefois d'inconvénients rares ou peu significatifs.

Que pouvons-nous attendre de ces RCT en chantier ?

En fonction des résultats négatifs ou mitigés présentés par les études déjà connues, il est très improbable que les lésions de stockage puissent représenter un problème clinique majeur ou significatif et constant, au moins pour l'ensemble de la population transfusée. S'il existe réellement une action délétère due à la durée de conservation des CE, ces conséquences cliniques possibles seraient au pire mineures ou limitées à certains patients, soit en raison d'une prédisposition particulière, soit en raison de la réunion de certains facteurs liés au patient ou à la transfusion. Pour résoudre la question, il faudrait donc initier des RCT comprenant des effectifs de patients très importants après avoir au préalable défini correctement les processus physiopathologiques en cause pour réunir des groupes suffisamment homogènes. Il n'est pas certains que les RCT en cours apportent les réponses souhaitées.

3.2.5. Impact sur l'approvisionnement en composants sanguins

Concernant l'âge des CE transfusés, il est important de noter que dans une étude au moins (ABLE), on compare le mode de distribution actuelle (*first in, first out*) avec l'utilisation systématique de CE de moins de 14 jours. Jusqu'à présent la recherche visait à déterminer savoir si les concentrés de longue conservation pouvaient nuire, on se demande ici si l'utilisation exclusive de CE frais serait cliniquement préférable. Les deux questions sont voisines mais pas identiques et le traitement statistique en est différent. Si les études se révèlent négatives, cela n'implique pas que les CE âgés ne puissent poser de problèmes. Si les études sont positives, le fait qu'elle n'apportent qu'une réponse globale sans identifier de mécanisme ou de cadre clinique particulier fait courir le risque que l'on évolue vers une distribution de sang frais généralisée ce qui pourrait poser de sérieux problèmes de gestion aux banques de sang. D'une étude de simulation de fonctionnement de banque de sang dans ces conditions, il ressort que l'utilisation systématique de concentrés frais induirait un déficit en termes de poches disponibles de l'ordre de 51 %, 20 %, 10 % ou 4 % selon que le *cut-off* est fixé à 7, 14, 21, ou 28 jours (Fontaine et al., 2010). Il ne s'agit toutefois que d'une estimation basée sur un modèle mathématique et non d'une mesure en conditions réelles. Hébert et al. (2005) ont pu maintenir dans une petite étude pilote (ICU et chirurgie cardiaque, 66 patients) la fourniture de CE (concentrés de moyenne de conservation inférieure de 8 et 15 jours par rapport à la situation actuelle) mais sans observer d'amélioration. La faiblesse de l'effectif limite fortement la portée de ces résultats. Par ailleurs, Zimrin & Hess (2009) ont estimé que le gaspillage en CE grandirait de 1 % à 30 % si la limite supérieure de la durée d'entreposage est diminuée de 42 à 21 jours, causant un grave problème de gestion appropriée de la ressource limitée que sont les dons de sang. Une pénurie d'une telle ampleur demanderait de sérieux efforts de la part de tous les acteurs en santé publique (CSS,

2009). Pour des hôpitaux ayant des réserves de CE excédant la demande, Atkinson et al. (2011) ont pu montrer que certains changements de politique d'attribution peuvent permettre la délivrance de CE conservées pendant 10 à 20 jours de moins.

Aucune RCT comparant des patients transfusés à des patients ne recevant pas de transfusion n'a été accomplie en chirurgie cardiaque, chirurgie ou soins intensifs (Wilkinson et al., 2011). Une estimation des conséquences de l'absence de transfusion peut cependant être dérivée de l'enquête menée par Lienhart et al. (2006). Cette enquête utilisait les certificats de décès d'une banque de données nationale pour évaluer les causes de mortalité péri-opératoire liées à l'anesthésie. Étonnamment, plus de morts pouvaient être imputées à une absence de transfusion ou une transfusion retardée, et uniquement une faible proportion de complications apparaissait après un épisode de transfusion.

3.3 Conclusions

1. La conservation des CE destinés à la transfusion humaine s'accompagne de modifications métaboliques et structurelles progressivement significatives au cours du temps, quoique plus ou moins réversibles selon le cas. Il a été suggéré à la suite de premières études rétrospectives que ces dégradations seraient susceptibles d'aggraver la morbidité et d'augmenter le taux de mortalité des patients transfusés dans divers cadres cliniques dont la chirurgie cardiaque.

2. Sans disposer encore de faits probants permettant de privilégier un ou plusieurs mécanismes physiopathologiques précis, les études entreprises depuis lors et qui n'incluent qu'une minorité d'essais contrôlés, ont abouti à des résultats discordants, indépendamment du cadre clinique étudié (chirurgie cardiaque, soins intensifs, oncologie, pédiatrie, néonatalogie). Les nombreuses difficultés techniques et pratiques rencontrées par les expérimentateurs, conjuguées aux faiblesses méthodologiques de la grande majorité des études, ne permettent pas actuellement une étude comparative utile des essais publiés, ni de se prononcer sur la pertinence de l'hypothèse testée. Middelburg et al. (2010) ont récemment préconisé un certain nombre d'étapes afin de mitiger l'impact du plus grand facteur de confusion (c.-à-d. l'indication à la transfusion) au niveau de la phase de préparation d'une étude clinique.

3. Le principe de précaution peut-il être invoqué pour proposer l'utilisation préférentielle de concentrés frais en dépit de l'absence de preuves d'une innocuité supérieure, ainsi que le pratiquent divers centres pour les patients aigus en cardiologie et soins intensifs (Zubair, 2010)? Selon l'avis du CSS, le principe de précaution est invocable lorsqu'on envisage l'application d'une technologie nouvelle dont on ignore les effets secondaires négatifs éventuels, ou lorsque l'on constate au présent ces mêmes effets sans pouvoir établir avec certitude un lien causal avec un facteur suspecté. Dans le cas des lésions de stockage, la réflexion concerne une pratique bien connue et est suscitée non pas par la constatation d'effets cliniques incontestables mais par des considérations théoriques et expérimentales partielles et discutables, au point que certains estiment qu'il serait inutile — voire non éthique — de procéder à la réalisation d'une RCT (Vamvakas, 2010). Non seulement les preuves avancées restent conflictuelles mais l'implémentation d'une utilisation préférentielle risque de créer un problème pour l'approvisionnement en composants sanguins pour d'autres patients. Les receveurs de concentrés érythrocytaires de *courte* durée de conservation pourraient d'ailleurs connaître une issue défavorable. Dès lors il apparaît au CSS que le principe de précaution n'a pas lieu de s'appliquer dans le contexte de la question posée. Par contre, le CSS estime nécessaire d'invoquer le principe de précaution quand il s'agit de prendre la décision de transfuser ou non (CSS, 2010; Isbister et al., 2011; Vamvakas, 2011).

4. Une réévaluation de la situation pourrait s'indiquer dans l'avenir, notamment en fonction des résultats attendus des RCT en projet et des recherches fondamentales mises sur pied actuellement. Les perturbations objectives de la structure et de la physiologie érythrocytaire pendant sa conservation dans les banques de sang sont nombreuses, et de nouveaux protocoles expérimentaux de qualité ouvrent la porte à d'autres hypothèses pathogéniques. D'un point de

vue scientifique, il n'est donc pas permis de refermer la question aujourd'hui. D'un autre côté, il ne faut pas perdre de vue que les progrès permanents en matière de solutions de conservation, de protocoles de revitalisation (*rejuvenation*) des concentrés conservés, et d'autres techniques plus ou moins sophistiquées telles que la congélation, l'élimination des érythrocytes d'âge médullaire avancé, le lavage des érythrocytes, la sélection des donneurs (concerne l'hémolyse et le *recovery* d'hémoglobine), l'utilisation de liposomes régénérants, la modification du pH ou la conservation en anaérobiose (Szymanski et al., 2001; Draper et al., 2002; Hess & Greenwalt, 2002; Hess et al., 2003; Lockwood et al., 2003; Hess et al., 2006; Högman et al., 2006; Högman et al., 2006b; D'Amici et al., 2007; Yoshida et al., 2007; Zehnder et al., 2008; Dumont et al., 2009; Raat et al., 2009; Burger et al., 2010; Hess, 2010; McAteer et al., 2010; Raval et al., 2011; Yoshida & Shevkopyas, 2010; Alfano & Tarasev, 2011; Ashenden & Mørkeberg, 2011; Meyer et al., 2011) pourraient représenter à l'avenir une solution qui rendrait caduque le questionnement actuel, au moins d'un point de vue pratique et dans la limite de la durée de conservation actuellement autorisée.

Recommandations

1. Au vu de l'état actuel des connaissances scientifiques, le CSS considère qu'il n'est pas recommandé, au jour d'aujourd'hui, de prendre en compte la durée de conservation des concentrés érythrocytaires pour la transfusion sanguine des patients en chirurgie cardiaque, ni d'ailleurs dans les autres situations cliniques chez l'adulte et ce pour les 6 raisons suivantes:

- **discordance des résultats enregistrés;**
- **caractère discuté, subjectif et non défini de la durée de conservation à adopter;**
- **impact limité des effets cliniques invoqués en termes de gravité clinique et de proportion des patients touchés;**
- **incertitudes méthodologiques concernant la réalisation et le traitement statistique dans les études positives publiées;**
- **variabilités techniques en matière de production des concentrés érythrocytaires (solution de conservation utilisée, déleucocytation ou non et méthode de déleucocytation);**
- **risques de désorganisation et de pénurie en composants sanguins en cas de recours élargi à des concentrés érythrocytaires de courte durée de conservation.**

2. En attendant qu'une réponse scientifique claire et univoque soit apportée à la question posée, il y a davantage d'intérêt médical à peser avec rigueur l'indication transfusionnelle qu'à introduire un processus de sélection des concentrés érythrocytaires basé sur leur durée de conservation.

Tableau 3. Association de la durée d'entreposage des concentrés érythrocytaires avec des complications cliniques: études observationnelles.

Etude ²	Méthode	Groupe de patients	Nombre de patients	Définition de la durée d'entreposage des unités transfusées	Complications	Déleucocytation ³	Association avec durée prolongée ⁴
Marik, 1993	Prospective	Soins intensifs	23	Age moyen des unités	VO ₂ systémique Changement maximal de pHi	N	NS S
Martin, 1994	Rétrospective	Soins intensifs	698	Nombre d'unités > 14 j	Durée d'hospitalisation		S
Purdy, 1997	Rétrospective	Soins intensifs	31	Age moyen des unités	Mortalité		S
Edna, 1998	Rétrospective	Chirurgie colorectale	290	Age médian	Infections	N	NS
Vamvakas, 1999	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	261; 192	Age moyen et médian des unités; 2 solutions de conservation différentes	Pneumonie Infection de plaie	< 5 % Y	NS
Zallen, 1999	Rétrospective	Trauma	63	Age moyen 24 j ou 30 j	Défaillance polyviscérale		S
Mynster, 2000	Prospective	Chirurgie colorectale	225	Age médian de l'unité la plus vieille	Infections	N	S
Vamvakas, 2000	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	268	Age moyen des unités	Durée d'hospitalisation	< 5 % Y	NS
Fernandes, 2001	Prospective	Soins intensifs	15	Age moyen des unités	VO ₂ systémique et gastrique	Y	NS
Mynster, 2001	Prospective	Chirurgie colorectale	452	Unités entreposées < 21 j ou > 21 j	Mortalité Récurrence	N	NS S (< 21 j)

² L'étude de Basran et al. (2006), fréquemment reprise dans les reviews et méta-analyses, n'est plus listée car elle vient d'être définitivement rétractée en 2009.

³ Présence (Y) ou absence (N) d'une déleucocytation par filtration.

⁴ Présence (S) ou absence (NS) d'une association statistiquement significative.

Keller, 2002	Rétrospective	Trauma	86	Nombre d'unités > 14 j	Durée d'hospitalisation	N	NS ⁵
Offner, 2002	Prospective	Trauma	61	Nombre d'unités > 14 et 21 j	Infections	N	S
Leal-Noval, 2003	Prospective	Chirurgie cardiaque	585	Age moyen des unités et âge de l'unité la plus vieille	Mortalité Pneumonie	N	NS S
Gajic, 2004	Rétrospective	Soins intensifs	181	Unités entreposées < 15 j, 15 - 20 j ou > 20 j	Durée d'hospitalisation	70 % Y	NS
Murrell, 2005	Rétrospective	Trauma	275	Age moyen, multiplié par le nombre d'unités	Mortalité Durée d'hospitalisation	N	NS S
Schmith, 2005	Prospective	Soins intensifs	35	Age moyen des unités	Oxygénation cérébrale	N ⁶	S
Taylor, 2006	Prospective	Soins intensifs	449	Age moyen de l'unité la plus élevée	Infections nosocomiales	N ou mélange	NS
van de Watering, 2006	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	2.732	Age moyen des unités et âge de l'unité la plus jeune, la plus vieille et autour de la moyenne	Mortalité Durée d'hospitalisation	N	NS
Weiskopf, 2006	Prospective	Anémie (volontaires sains)	9	Unités entreposées 3,5 h ou 23 j	Oxygénation cérébrale défaillante		NS
Gajic, 2007	Prospective	Soins intensifs	916	Age moyen des unités	TRALI		NS

⁵ Résultat non significatif d'après la correction par Mynster (2003) et suivant les modèles ajustés.

⁶ P. le Roux (2011; *pers. comm.*)

Sakr, 2007	Prospective	Soins intensifs (Septicémie sévère et choc septique)	35	Age médian des unités	Perfusion capillaire	Y	NS
Dessertaine, 2008	Rétrospective	Soins intensifs	534	Unités entreposées < 14 j et < 21 j	Mortalité	Y	NS
Koch, 2008	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	5.902	Age le plus long d'unités < 14 j ou ≥ 15 j	Morbidité Mortalité	à mi-chemin de l'étude Y ⁷	S
Leal-Noval, 2008	Prospective	Trauma	64	Unités entreposées < 10 j, 10 - 14 j, 15 - 19 j ou > 19 j	Oxygénation cérébrale défailante	Y	NS ⁸
Luten, 2008	Prospective	Oncologie (chimiothérapie à dose élevée)	10	Unités entreposées 0 - 10 j ou 25 - 35 j	Récupération post-transfusionnelle (après 24 h)	Y	NS
Nahra, 2008	Rétrospective	Soins intensifs	422	Age moyen des unités, de la première unité et de l'unité la plus vieille < 29 j ou > 29 j	Taux d'infection nosocomiale		S
Weinberg, 2008	Prospective	Trauma	1.813	Unités entreposées < 14 j ou ≥ 14 j	Durée d'hospitalisation Mortalité	Y	NS (S, si > 6 unités)
Weinberg, 2008b	Rétrospective	Trauma	1.624	Unités entreposées < 14 j ou ≥ 14 j	Défaillance rénale Pneumonie Mortalité	Y	S

⁷ Selon Koch & Blackstone (2007).

⁸ Résultat non significatif d'après la correction par Netzer et al. (2008).

Yap, 2008	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	670	Age moyen des unités, de l'unité la plus vieille et des unités entreposées > 30 j	Mortalité Défaillance rénale Pneumonie Durée d'hospitalisation Durée de ventilation	3,8 % Y	NS
Festic, 2009	Prospective	Soins intensifs	28		Mortalité Infection Œdèmes pulmonaires		NS
Kneyber, 2009	Rétrospective	Trauma	67	Age moyen des unités	Mortalité Durée d'hospitalisation	Y	NS
Spinella, 2009	Rétrospective	Trauma	202	Unités entreposées < 27 j ou ≥ 28 j	Mortalité Thrombose veineuse profonde	Y	S
Ranucci, 2009	Rétrospective	Chirurgie cardiaque (amorçage en néonatalogie; pédiatrie)	192	Unités entreposées ≤ 4 j ou > 5 j	Complications pulmonaires Défaillance rénale Infections	N	S (NS si administré après l'amorçage)
Edgren, 2010	Rétrospective	Trauma; chirurgie cardiaque; etc.	387.130	Unités entreposées entre 10 et 19 j ou ≥ 30 j	Mortalité	<i>estimations du risque ne changent pas, si uniquement receveurs d'unités déleucocytées</i>	S ⁹

⁹ Les 5 % d'accroissement de mortalité rapportés par ces auteurs ne suivent pas une relation dose-réponse la mortalité parmi les patients ayant reçu le moins d'unités les plus vieilles était plus élevée que chez ceux ayant reçu le nombre le plus élevé. Aucune cause de décès ne prédominait.

Eikelboom, 2010	Prospective	Chirurgie cardiaque	4.933	Age moyen mobile des unités et âge de l'unité la plus vieille	Mortalité	Y	S
Gauvin, 2010	Prospective	Soins intensifs	455	Unités entreposées > 7 j, > 14 j et > 21 j ou âge de l'unité la plus vieille	Défaillance polyviscérale	Y	S
Karam, 2010	Prospective	Soins intensifs	296	Age médian des unités entreposées < 14 j ou ≥ 14 j	Défaillance polyviscérale Durée d'hospitalisation	86 % Y	S
Robinson, 2010	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	909	Unités entreposées < 28 j ou ≥ 29 j	Mortalité	Y	S
Andreasen, 2011	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	4.240	Age des unités entreposées < 14 j ou ≥ 14 j	Infection postopératoire sévère	N	S
Cata, 2011	Rétrospective	Oncologie (prostatectomie)	405	Age de l'unité (autologue) la plus vieille ou âge médian des unités (allogéniques) entreposées ≤ 13j, entre 13 et 18 j, ≥ 18 j	Récurrence biochimique après 5 ans		NS
Hassan, 2011	Rétrospective	Trauma	820	Age des unités entreposées ≤ 14 j ou > 14 j	Mortalité Septicémie sévère ou choc		NS S

Juffermans, 2011	Rétrospective	Soins intensifs	134	Age des unités entreposées ≤ 14 j ou > 14 j	Taux d'infection nosocomiale	Y	S
Kekre, 2011	Rétrospective	Oncologie (greffe de cellules souches hématopoïétiques)	555	Age moyen des unités entreposées < 15 j ou ≥ 15 j	Mortalité Défaillance polyviscérale Durée d'hospitalisation Admission en soins intensifs	Y	NS
McKenny, 2011	Prospective	Chirurgie cardiaque	1.153	Age des unités entreposées (jusqu'à 35 j) ≤ 14 j ou > 14 j et ≤ 21 j ou > 21 j	Mortalité Défaillance rénale Pneumonie Infection Durée d'hospitalisation Durée de ventilation	Y	NS
Petitiță, 2011	Prospective	Soins intensifs	757	Age maximum en quartiles des unités entreposées	Mortalité	Y	S
Sanders, 2011	Prospective	Chirurgie cardiaque	176	Age des unités entreposées ≤ 14 j ou > 14 j	Durée d'hospitalisation Défaillance rénale Morbidity	Y	S
van Straten, 2011	Rétrospective	Chirurgie cardiaque	5.316	Age des unités entreposées < 14 j ou ≥ 14 j	Mortalité	Y	NS

Tableau 4. Association de la durée d'entreposage des concentrés érythrocytaires avec des complications cliniques: études randomisées.

Etude	Groupe de patients	Nombre de patients	Définition de la durée d'entreposage des unités transfusées	Complications	Déleucocytation	Association avec durée prolongée
Fogh-Andersen, 1984	Hémodialyse chronique	10	Unités entreposées < 5 j ou 14 j	Hémolyse	N	NS
Wasser, 1989	Chirurgie cardiaque	237	Unités entreposées < 12 h ou 2 - 5 j	Perte de sang postopératoire	N	NS
Manno, 1991	Chirurgie cardiaque	161	Unités entreposés ≤ 2 j ou ≤ 5 j; sang âgé reconstitué	Perte de sang postopératoire	N	S
Eshleman, 1994	Néonatalogie	12	Unités entreposées ≤ 5 j ou 10 - 35 j	K ⁺ , 2-3-DPG et P50 post-transfusion	N	NS
Rivers, 2001	Soins intensifs (Septicémie sévère et choc septique)	130	— ¹⁰	Mortalité Défaillance polyviscérale		NS
Schulman, 2002	Trauma	17	Unités entreposées < 11 j ou > 20 j	Mortalité	Y	NS (S < 11 j)
Mou, 2004	Chirurgie cardiaque	200	Unités entreposées en moyenne 48 h ou 140 h; 2 solutions de conservation différentes	Durée d'hospitalisation	pas 100 % Y	NS (S < 2 j)

¹⁰ Etant donné que plus de transfusions (c.-à-d. unités plus vieilles) ont été administrées dans le cadre d'un traitement clairement bénéfique.

Walsh, 2004	Trauma	22	Unités entreposées < 6 j ou > 21 j	Oxygénation gastrique	Y	NS ¹¹
Hébert, 2005	Soins intensifs	57	Age médian des unités entreposées 4 j ou 19 j	Mortalité	Y	NS (S < 4 j)
Wallis, 2005	Hématologie	10	Unités entreposées < 10 j ou > 24 j	Hb incréments et 2-3-DPG 24 h post-transfusion	Y	NS
Fergusson, 2006 ¹²	Soins intensifs (prématurés)	377	Unités entreposées < 7 j ou ≥ 8 j	Composite Mortalité Infections Durée d'hospitalisation	Y	complétée en 2011; en publication
Chittock, 2007	Trauma cérébral	60	Unités entreposées < 5 j ou ≥ 20 j	Oxygénation cérébrale		complétée en 2007; non publiée
Gajic, 2008	Soins intensifs	200 (en recrutement)	Unités entreposées < 5 j ou ≥ 6 j	Œdèmes pulmonaires Mortalité Défaillance polyviscérale	Y	NS ¹³
Gruenwald, 2008	Chirurgie cardiaque (nouveau-nés)	33	Unités entreposées ≤ 2 j ou âge médian 14 j; sang frais reconstitué	Volume de drainage thoracique / Saignements Durée de ventilation Infections postopératoires Durée d'hospitalisation	Y	S S NS S

¹¹ Napolitano & Corwin (2004), ainsi que Weil (2004) rejettent la conclusion des auteurs.

¹² Conception de l'étude présentée par Fergusson et al. (2009).

¹³ Abstract concernant les 100 premiers patients récemment publié par Kor et al. (2011).

Koch, 2008	Chirurgie cardiaque	2.800 (en recrutement)	Unités entreposées < 14 j ou ≥ 20 j	Morbidité et mortalité	Y	[prévu pour 2013]
Lacroix, 2009 ¹⁴	Soins intensifs	1.500 (en recrutement)	Unités entreposées < 8 j ou ≥ 9 j	Mortalité Défaillance polyviscérale Infections nosocomiales Durée d'hospitalisation	Y	[prévu pour 2013]
Assmann, 2009 ¹⁵	Chirurgie cardiaque	1.800 (en recrutement)	Unités entreposées ≤ 10 j ou ≥ 21 j	Défaillance polyviscérale Mortalité	Y	[prévu pour 2013]
Spinella, 2011	Soins intensif pédiatriques	recrutement prévu de 1.500	Unités entreposées ≤ 7 j ou > 8 j	Défaillance polyviscérale Mortalité	Y	[prévu pour 2016]

¹⁴ Conception de l'étude présentée par Lacroix et al. (2011).

¹⁵ Analyses de faisabilité publiées par Bennet-Guerrero et al. (2009) et Steiner et al. (2010).

4. REFERENCES

- AABB. Clinical Significance of Red Cell Age in Transfusions; 2008 [joint statement presented by D. Triulzi before ACSBA (HHS) 5/30/08 accessed 2008 May 30]. Available from: URL: <http://www.aabb.org/pressroom/statements/Pages/jointstatement053008.aspx>
- Adamson JW. New blood, old blood, or no blood? *N Engl J Med* 2008;358:1295-6.
- Alfano K, Tarasev M. Investigating Direct Non-Age Metrics of Stored Blood Quality Loss. *Internet J Med Tech.* 2011;5:1. [accessed 2010 June 15]. Available from: URL: http://www.ispub.com/journal/the_internet_journal_of_medical_technology/volume_5_number_1_50/article/investigating-direct-non-age-metrics-of-stored-blood-quality-loss.html
- Almac E, Ince C. The impact of storage on red cell function in blood transfusion. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2007;21:195-208.
- Andreasen JJ, Dethlefsen C, Modrau IS, Baech J, Schonheyder HC, Moeller JK, et al. Storage time of allogeneic red blood cells is associated with risk of severe postoperative infection after coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011;39:329-34.
- Anniss AM, Sparrow RL. Storage duration and white blood cell content of red blood cell (RBC) products increases adhesion of stored RBCs to endothelium under flow conditions. *Transfusion* 2006;46:1561-7.
- Ashenden M, Mørkeberg J. Net haemoglobin increase from reinfusion of refrigerated vs. frozen red blood cells after autologous blood transfusions. *Vox Sang* 2011;100:*in press*.
- Assmann SF. The Red Cell Storage Duration Study (RECESS); 2009 [accessed 2010 June 15]. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/>
- Atkinson MP, Fontaine MJ, Goodnough LT, Wein LM. A novel allocation strategy for blood transfusions: investigating the tradeoff between the age and availability of transfused blood. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
- Baele PL, Muylle L, Noens L, Gulliksson H, Brand A, Isbister J, et al. Guidelines for the transfusion of red cells. *Acta Clinica Belgica* 2008;63:301-12.
- 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 [retracted in *Anesth Analg* 2009;108:1991]. *Anesth Analg* 2006;103:15-20.
- Baumgartner JM, Nydam TL, Clarke JH, Banerjee A, Silliman CC, McCarter MD. Red blood cell supernatant potentiates LPS-induced proinflammatory cytokine response from peripheral blood mononuclear cells. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29:333-8.
- Benjamin RJ, Dodd RY. Red-cell storage and complications of cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:2840-1; author reply 2841-2.
- Bennett-Guerrero E, Vekdman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17063-8.
- Bennett-Guerrero E, Stafford-Smith M, Waweru PM, Bredehoeft SJ, Campbell ML, Haley NR, et al. A prospective, double-blind, randomized clinical feasibility trial of controlling the storage age of red blood cells for transfusion in cardiac surgical patients. *Transfusion* 2009;49:1375-83.
- Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, Spillert CR, Kamiyama M, Spolarics Z, et al. Influence of storage on red blood cell rheological properties. *J Surg Res* 2002;102:6-12.
- Berg CP, Engels IH, Rothbart A, Lauber K, Renz A, Schlosser SF, et al. Human mature red blood cells express caspase-3 and caspase-8, but are devoid of mitochondrial regulators of apoptosis. *Cell Death Differ* 2001;8:1197-206.
- Bernard A, Meier C, Lopez N, May J, Chang P, Boulanger B, et al. Packed red blood cell-associated arginine depletion is mediated by arginase. *J Trauma* 2007;63:1108-12; discussion 1112.
- BEST. The BEST Collaborative. International Research Organization Responds to Recent Studies Purporting to Show that Transfusion of Older Red Blood Cells Leads to Greater Risk. The Biomedical Excellence for Safer Transfusion Collaborative; 2008 [press release accessed 2008 May 27]. Available from: URL: http://www.bestcollaborative.org/press/release_27may08.pdf
- Biffi WL, Moore EE, Offner PJ, Ciesla DJ, Gonzalez RJ, Silliman CC. Plasma from aged stored red blood cells delays neutrophil apoptosis and primes for cytotoxicity: abrogation by poststorage washing but not prestorage leukoreduction. *J Trauma* 2001;50:426-31; discussion 432.

- Bilgin YM, Brand A. Transfusion-related immunomodulation: a second hit in an inflammatory cascade? *Vox Sang* 2008; 95:261-71.
- Bilgin YM, van de Watering LMG, Versteegh MIM, van Oers MHJ, Brand A. Effects of allogeneic leukocytes in blood transfusions during cardiac surgery on inflammatory mediators and postoperative complications. *Crit Care Med* 2010;38:546-52.
- Bonaventura J. Clinical implications of the loss of vasoactive nitric oxide during red blood cell storage. *Proc Natl Acad Sc USA* 2007;104:19165-6.
- Bosman GJ, Lasonder E, Groenen-Dopp YA, Willekens FL, Werre JM, Novotny VM. Comparative proteomics of erythrocyte aging in vivo and in vitro. *J Proteomics* 2008;73:396-402.
- Bosman GJ, Lasonder E, Luten M, Roerdinkholder-Stoelwinder B, Novotny VM, Bos H, et al. The proteome of red cell membranes and vesicles during storage in blood bank conditions. *Transfusion* 2008b;48:827-35.
- Bosman GJ, Cluitmans JC, Groenen YA, Werre JM, Willekens FL, Novotny VM. Susceptibility to hyperosmotic stress-induced phosphatidylserine exposure increases during red blood cell storage. *Transfusion* 2011;51:1072-8.
- Burger P, Korsten H, De Korte D, Rombout E, Van Bruggen R, Verhoeven AJ. An improved red blood cell additive solution maintains 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate levels by an enhancing effect on phosphofructokinase activity during cold storage. *Transfusion*. 2010;50:2386-92.
- Carson JL, Duff A, Berlin JA, Lawrence VA, Poses RM, Huber EC, et al. Perioperative blood transfusion and postoperative mortality. *JAMA* 1998;279:199-205.
- Cata JP, Klein EA, Hoeltge GA, Dalton JE, Mascha E, O'Hara J, et al. Blood storage duration and biochemical recurrence of cancer after radical prostatectomy. *Mayo Clin Proc* 2011;86:120-7.
- CBBS. California Blood Bank Society. Routine use of newer (fresher) RBC products. California Blood Bank Society; 2008 [forum discussion accessed on 2008 June 17]. Available from: URL: <http://cbbsweb.org/enf/2008/freshrbc.pdf>
- Chittock, D. Age of blood in brain injury; 2007 [accessed on 2010 June 15]. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/>
- Crawford JH, Isbell TS, Huang Z, Shiva S, Chacko BK, Schechter AN, et al. Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. *Blood* 2006;107:566-74.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. L'évaluation du risque de pénurie ou d'une réelle pénurie dans l'approvisionnement en sang et en composants sanguins provoquée par une pandémie de grippe A(H1N1). Bruxelles: CSS; 2009. Avis n° 8629.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. Bonnes pratiques de transfusion à l'usage des hôpitaux. Bruxelles: CSS; 2010. Avis n° 8381.
- d'Almeida MS, Jagger J, Duggan M, White M, Ellis C, Chin-Yee IH. A comparison of biochemical and functional alterations of rat and human erythrocytes stored in CPDA-1 for 29 days: implications for animal models of transfusion. *Transfus Med* 2000;10:291-303.
- d'Almeida MS, Gray D, Martin C, Ellis CG, Chin-Yee IH. Effect of prophylactic transfusion of stored RBCs on oxygen reserve in response to acute isovolemic hemorrhage in a rodent model. *Transfusion* 2001;41:950-6.
- D'Amici GM, Rinalducci S, Zolla L. Proteomic analysis of RBC membrane protein degradation during blood storage. *J Proteome Res* 2007;6:3242-55.
- Dejam A, Hunter CJ, Schechter AN, Gladwin MT. Emerging role of nitrite in human biology. *Blood Cells Mol Dis* 2004;32:423-9.
- Dejam A, Hunter CJ, Pelletier MM, Hsu LL, Machado RF, Shiva S, et al. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood. *Blood* 2005;106:734-9.
- Delaby C, Pilard N, Hetet G, Driss F, Grandchamp B, Beaumont C, et al. A physiological model to study iron recycling in macrophages. *Exp Cell Res* 2005;310:43-53.
- Delaby C, Pilard N, Puy H, Canonne-Hergaux F. Sequential regulation of ferroportin expression after erythrophagocytosis in murine macrophages: early mRNA induction by haem, followed by iron-dependent protein expression. *Biochem J* 2008;411:123-31.
- Dessertaine G, Hammer L, Chenais F, Rémy J, Schwebel C, Tabah A, et al. L'âge des culots globulaires transfusés influence-t-il toujours le pronostic des patients en réanimation? *Transfus Clin Biol* 2008;15:154-9.

- Donadee C, Raat NJ, Kaniyas T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, et al. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation* 2011;124:465-76.
- Draper CJ, Greenwalt TJ, Dumaswala UJ. Biochemical and structural changes in RBCs stored with different plasticizers: the role of hexanol. *Transfusion* 2002;42:830-5.
- Dumont LJ, Yoshida T, AuBuchon JP. Anaerobic storage of red blood cells in a novel additive solution improves in vivo recovery. *Transfusion* 2009;49:458-64.
- Dzik W. Fresh blood for everyone? Balancing availability and quality of stored RBCs. *Transfusion Medicine* 2008;4:260-5.
- Edna TH, Bjerkeset T. Perioperative blood transfusions reduce long-term survival following surgery for colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1998;41:451-459.
- Edgren G, Kamper-Jorgensen M, Eloranta S, Rostgaard K, Custer B, Ullum H, et al. Duration of red blood cell storage and survival of transfused patients. *Transfusion* 2010;50:1183-93.
- Eikelboom JW, Cook RJ, Liu Y, Heddle NM. Duration of red cell storage before transfusion and in-hospital mortality. *Am Heart J* 2010;159:737-43.
- Elfath MD. Is it time to focus on preserving the functionality of red blood cells during storage? *Transfusion* 2006;46:1469-70.
- Ellsworth ML. The red blood cell as an oxygen sensor: what is the evidence? *Acta Physiol Scand* 2000;168:551-9.
- Englehart MS, Cho SD, Morris MS, Gee AC, Riha G, Underwood SJ, et al. Use of leukoreduced blood does not reduce infection, organ failure, or mortality following trauma. *World J Surg* 2009;33:1626-32.
- Engoren MC, Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ. Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *Ann Thorac Surg* 2002;74:1180-6.
- Eshleman JR, Akinbi H, Pleasure J, Asakura T, Magee D, Smith L, et al. Prospective double-blind study of small volume neonatal transfusion with RBCs up to 35 days old. *Transfusion* 1994;34(10S):S126.
- Fergusson DA. The Age of Red Blood Cells in Premature Infants (ARIP) - International Standard Randomized Controlled Trial Number Register (ISRCTN); 2010 [accessed on 2010 June 15]. Available from: URL: <http://www.controlled-trials.com/isrctn/pf/65939658>
- Fergusson D, Hutton B, Hogan DL, LeBel L, Blajchman MA, Ford JC, et al. The Age of Red Blood Cells in Premature Infants (ARIP) Randomized Controlled Trial: Study Design. *Transfus Med Rev* 2009;23:55-61.
- Fernandes CJ Jr, Akamine N, De Marco FV, De Souza JA, Lagudis S, Knobel E. Red blood cell transfusion does not increase oxygen consumption in critically ill septic patients. *Crit Care* 2001;5:362-7.
- Festic E, Freeman WD, Di Trapani R, Ng H, Zubair A, Gajic O. Transfusion, Red Cell Storage Age and Adverse Outcomes in Critically Ill Patients with Subarachnoid Hemorrhage [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:A3118.
- Fogh-Andersen N, Mogensen F. On the safety of using stored bank blood for chronic hemodialysis patients. *Transfusion* 1984;24:505-7.
- Fontaine MJ, Chung YT, Erhun F, Goodnough LT. Age of blood as a limitation for transfusion: potential impact on blood inventory and availability. *Transfusion* 2011;51:662-3.
- Frenzel T, Sibrowski W, Westphal M. Red-cell storage and complications of cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358(26):2841; author reply 2841-2.
- Gajic O. Transfusion-Induced Alterations of Pulmonary and Immune Function in Mechanically Ventilated Patients (TRALI2); 2008. [accessed 2010 June 15]. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/>
- Gajic O, Rana R, Mendez JL, Rickman OB, Lymp JF, Hubmayr RD, et al. Acute lung injury after blood transfusion in mechanically ventilated patients. *Transfusion* 2004;44:1468-74.
- Gajic O, Rana R, Winters JL, Yilmaz M, Mendez JL, Rickman OB, et al. Transfusion-related acute lung injury in the critically ill: prospective nested case-control study. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:886-91.

- Gauvin F, Spinella PC, Lacroix J, Choker G, Ducruet T, Karam O, et al. Association between length of storage of transfused red blood cells and multiple organ dysfunction syndrome in pediatric intensive care patients. *Transfusion* 2010;50:1902-13.
- Gelderman MP, Yazer MH, Jia Y, Wood F, Alayash AI, Vostal JG. Serial oxygen equilibrium and kinetic measurements during RBC storage. *Transfus Med* 2010;20:341-5.
- Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. The functional nitrite reductase activity of the heme-globins. *Blood* 2008;112:2636-47.
- Glynn SA. The red blood cell storage lesion: a method to the madness. *Transfusion* 2010;50:1164-9.
- Greenwalt TJ. The how and why of exocytic vesicles. *Transfusion* 2006;46:143-52.
- Gruenewald CE, McCrindle BW, Crawford-Lean L, Holtby H, Parshuram C, Massicotte P, et al. Reconstituted fresh whole blood improves clinical outcomes compared with stored component blood therapy for neonates undergoing cardiopulmonary bypass for cardiac surgery: a randomized controlled trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;136:1442-9.
- Habib RH, Zacharias A. Red-cell storage and complications of cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:2841; author reply 2841-2.
- Hall SW. Red-cell storage and complications of cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:2841; author reply 2841-2.
- Hassan M, Pham TN, Cuschieri J, Warner KJ, Nester T, Maier RV, et al. The association between the transfusion of older blood and outcomes after trauma. *Shock* 2011;35:3-8.
- Hébert PC, Chin-Yee I, Fergusson D, Blajchman MA, Martineau R, Clinch J, et al. A pilot trial evaluating the clinical effects of prolonged storage of red cells. *Anesth Analg* 2005;100:1433-8.
- Hébert PC, Tinmouth A, Corwin HL. Controversies in RBC transfusion in the critically ill. *Chest* 2007;131:1583-90.
- Hendrickson JE, Hod EA, Cadwell CM, Eisenbarth SC, Spiegel DA, Tormey CA, et al. Rapid clearance of transfused murine red blood cells is associated with recipient cytokine storm and enhanced alloimmunogenicity. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
- Hendrickson JE, Hod EA, Hudson KE, Spitalnik SL, Zimring JC. Transfusion of fresh murine red blood cells reverses adverse effects of older stored red blood cells. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
- Hess JR. Conventional blood banking and blood component storage regulation: opportunities for improvement. *Blood Transfus* 2010;8 (Suppl 3):s9-15.
- Hess JR, Greenwalt TG. Storage of red blood cells: new approaches. *Transfus Med Rev* 2002;16:283-95.
- Hess JR, Hill HR, Oliver CK, Lippert LE, Rugg N, Joines AD, et al. Twelve-week RBC storage. *Transfusion* 2003;43:867-72.
- Hess JR, Rugg N, Joines AD, Gormas JF, Pratt PG, Silberstein EB, et al. Buffering and dilution in red blood cell storage. *Transfusion* 2006;46:50-4.
- HHS. Department of Health and Human Services. U.S. Food and Drug Administration. Center for Biologics Evaluation and Research. Meeting of the Advisory Committee on Blood Safety & Availability (ACBSA), 30 May 2008: Clinical Significance of Red Cell Age in Transfusions; 2008 [accessed 2008 June 17]. Available from: <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/BloodVaccinesandOtherBiologics/BloodProductsAdvisoryCommittee/default.htm>
- Hod EA, Spitalnik SL. Harmful effects of transfusion of older stored red blood cells: iron and inflammation. *Transfusion* 2011;51:881-5.
- Ho J, Sibbald WJ, Chin-Yee IH. Effects of storage on efficacy of red cell transfusion: when is it not safe? *Crit Care Med* 2003;31(12 Suppl):S687-97.
- 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.
- Högman CF, Lof H, Meryman HT. Storage of red blood cells with improved maintenance of 2,3-bisphosphoglycerate. *Transfusion* 2006;46:1543-52.
- Högman CF, Meryman HT. Red blood cells intended for transfusion: quality criteria revisited. *Transfusion* 2006b;46:137-42.

- Holovati JL, Acker JP. Emerging Role for Use of Liposomes in the Biopreservation of Red Blood Cells. *Transfus Med Hemother* 2011;38:99-106.
- Illoh O, Greb B, Davis J, Illoh K. Chemokine receptors expressed on T cells in packed red blood cell units change over storage time. *Transfus Med* 2006;16:254-60.
- Isbell TS, Sun CW, Wu LC, Teng X, Vitturi DA, Branch BG, et al. SNO-hemoglobin is not essential for red blood cell-dependent hypoxic vasodilation. *Nat Med* 2008;14:773-7.
- Isbister JP, Shander A, Spahn DR, Erhard J, Farmer SL, Hofmann A. Adverse blood transfusion outcomes: establishing causation. *Transfus Med Rev* 2011;25:89-101.
- Izbicki G, Rudensky B, Na'amad M, Hershko C, Huerta M, Hersch M. Transfusion-related leukocytosis in critically ill patients. *Crit Care Med* 2004;32:439-42.
- Juffermans NP, Prins DJ, Vlaar AP, Nieuwland R, Binnekade JM. Transfusion-related risk of secondary bacterial infections in sepsis patients: a retrospective cohort study. *Shock* 2011;35:355-9.
- 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: a prospective observational study. *Crit Care* 2010;14:R57.
- Karon BS, Hoyer JD, Stubbs JR, Thomas DD. Changes in Band 3 oligomeric state precede cell membrane phospholipid loss during blood bank storage of red blood cells. *Transfusion* 2009;49:1435-42.
- Kaul DK, Koshkaryev A, Artmann G, Barshtein G, Yedgar S. Additive effect of red blood cell rigidity and adherence to endothelial cells in inducing vascular resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:H1788-93.
- Keidan I, Amir G, Mandel M, Mishali D. The metabolic effects of fresh versus old stored blood in the priming of cardiopulmonary bypass solution for pediatric patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:949-52.
- 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* 2002;53:1023-5.
- Kekre N, Chou A, Tokessey M, Doucette S, Tinmouth A, Tay J, et al. Storage time of transfused red blood cells and impact on clinical outcomes in hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
- Ketch TR, Turner SJ, Sacrinty MT, Lingle KC, Applegate RJ, Kutcher MA, et al. ABO blood types: influence on infarct size, procedural characteristics and prognosis. *Thromb Res* 2008;123:200-5.
- Kim-Shapiro DB, Lee J, Gladwin MT. Storage lesion: role of red blood cell breakdown. *Transfusion* 2011;51:844-51.
- Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, et al. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 2006;107:2943-51.
- Kneyber MC, Gazendam RP, Markhorst DG, Plötz FB. Length of storage of red blood cells does not affect outcome in critically ill children. *Intensive Care Med* 2009;35:179-80.
- Koch C. The Red Cell Storage Duration and Outcomes in Cardiac Surgery study; 2009 [accessed on 2010 June 15]. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/>
- Koch CG, Blackstone EH. Blood Transfusion After Cardiac Surgery: Damned if You Don't. Damned if You Do? [Reply to the Editor]. *Ann Thorac Surg* 2007;83:2258-63.
- 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.
- Kor DJ, Van Buskirk CM, Gajic O. Red blood cell storage lesion. *Bosn J Basic Med Sci* 2009;9(Suppl 1):21-7.
- Kor DJ, Kashyap R, Weiskopf R, Wilson G, van Buskirk CM, Winters JL, et al. The Impact Of Red Blood Cell Storage Duration On Short-Term Pulmonary Function And Immunologic Status In Mechanically Ventilated Patients [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:A2384.
- Korgun DK, Bilmen S, Yesilkaya A. Alterations in the erythrocyte antioxidant system of blood stored in blood bags. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001;109:357-63.
- Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Progressive oxidation of cytoskeletal proteins and accumulation of denatured hemoglobin in stored red cells. *J Cell Mol Med* 2007;11:148-55.

- Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Storage-dependent remodeling of the red blood cell membrane is associated with increased immunoglobulin G binding, lipid raft rearrangement, and caspase activation. *Transfusion* 2007b;47:1212-20.
- Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. RBC-derived vesicles during storage: ultrastructure, protein composition, oxidation, and signaling components. *Transfusion* 2008;48:1943-53.
- Lacroix J. The Age of Blood Evaluation (ABLE) Study - International Standard Randomized Controlled Trial Number Register (ISRCTN); 2008 [accessed on 2010 June 15]. Available from: URL: <http://www.controlled-trials.com/isrctn/pf/44878718>
- Lacroix J, Hébert P, Fergusson D, Tinmouth A, Blajchman MA, Callum J, et al. The Age of Blood Evaluation (ABLE) Randomized Controlled Trial: Study Design. *Transfus Med Rev* 2011;25:197-205.
- Lahiri S, Roy A, Baby SM, Hoshi T, Semenza GL, Prabhakar NR. Oxygen sensing in the body. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;91:249-86.
- Lauer T, Preik M, Rassaf T, Strauer BE, Deussen A, Feelisch M, et al. Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12814-9.
- Laurie J, Wyncoll D, Harrison C. New versus old blood - the debate continues. *Crit Care* 2010;14:130.
- Leal-Noval SR, Jara-López I, García-Garmendia JL, Marín-Niebla A, Herruzo-Avilés A, Camacho-Laraña P, et al. Influence of erythrocyte concentrate storage time on postsurgical morbidity in cardiac surgery patients. *Anesthesiology* 2003;98:815-22.
- Leal-Noval SR, Muñoz-Gómez M, Arellano-Orden V, Marín-Caballos A, Amaya-Villar R, Marín A, et al. Impact of age of transfused blood on cerebral oxygenation in male patients with severe traumatic brain injury. *Crit Care Med* 2008;36:1290-6.
- 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.
- Lienhart A, Auroy Y, Pequignot F, Benhamou D, Warszawski J, Bovet M, et al. Survey of anesthesia-related mortality in France. *Anesthesiology* 2006;105:1087-97.
- Liumbruno GM, AuBuchon JP. Old blood, new blood or better stored blood? *Blood Transfus* 2010;8:217-9.
- Lockwood WB, Hudgens RW, Szymanski IO, Teno RA, Gray AD. Effects of rejuvenation and frozen storage on 42-day-old AS-3 RBCs. *Transfusion* 2003;43:1527-32.
- Lu C, Shi J, Yu H, Hou J, Zhou J. Procoagulant activity of long-term stored red blood cells due to phosphatidylserine exposure. *Transfus Med* 2011;21:150-7.
- Luten M, Roerdinkholder-Stoelwinder B, Schaap NP, de Grip WJ, Bos HJ, Bosman GJ. Survival of red blood cells after transfusion: a comparison between red cells concentrates of different storage periods. *Transfusion* 2008;48:1478-85.
- Mangalmurti NS, Chatterjee S, Cheng G, Andersen E, Mohammed A, Siegel DL, et al. Advanced glycation end products on stored red blood cells increase endothelial reactive oxygen species generation through interaction with receptor for advanced glycation end products. *Transfusion* 2010;50:2353-61.
- Manno CS, Hedberg KW, Kim HC, Bunin GR, Nicolson S, Jobs D, et al. Comparison of the hemostatic effects of fresh whole blood, stored whole blood, and components after open heart surgery in children. *Blood* 1991;77:930-6.
- Marik P. Does the age of blood matter? *Crit Care Med* 2004;32(6):1442-3; author reply 1443.
- Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2008;36:2667-74.
- Marik P, Sibbald WJ. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993;269:3024-9.
- Martin CM, Sibbald WJ, Lu X, Hébert P, Schweizer I. Age of transfused red blood cells is associated with ICU length of stay. [abstract] *Clin Invest Med* 1994;17:B21.

- Matheu FA, McFaul SJ. Supernates from stored red blood cells inhibit platelet aggregation. *Transfusion* 2010;50:1196-202.
- McAteer MJ, Dumont LJ, Cancelas J, Rugg N, Vassallo R, Whitley P, et al. Multi-institutional randomized control study of haemolysis in stored red cell units prepared manually or by an automated system. *Vox Sang* 2010;99:34-43.
- McKenny M, Ryan T, Tate H, Graham B, Young VK, Dowd N. Age of transfused blood is not associated with increased postoperative adverse outcome after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2011;106:643-9.
- Meziari F, Tesse A, Andriantsitohaina R. Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacol Rep* 2008;60:75-84.
- Meyer EK, Dumont DF, Baker S, Dumont LJ. Rejuvenation capacity of red blood cells in additive solutions over long-term storage. *Transfusion* 2011;51:1574-9.
- Mitrofan-Oprea L, Palii C, Tissier JP, Héron A, Verpoort T, Behague M, et al. Nouveaux critères d'évaluation de la viabilité des hématies destinées à la transfusion. *Transfus Clin Biol* 2007;14:393-401.
- 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;50:1181-3.
- Morrison A, McMillan L, Hornsey VS, Prowse CV. Stored red-blood-cells inhibit platelet function under physiologic flow. *Vox Sang* 2010;99:362-8.
- Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ, 2nd. A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9383-7.
- Mou SS, Giroir BP, Molitor-Kirsch EA, Leonard SR, Nikaidoh H, Nizzi F, et al. Fresh blood versus reconstituted blood for pump priming in heart surgery in infants. *N Engl J Med* 2004;351:1635-44.
- Muñoz M, Gómez-Luque A, Naveira-Abeigón E, Ramírez G. Erythrocyte transfusion and postsurgical morbidity in cardiac surgery patients: is it the storage time or the number of transfused concentrates that really matters? *Anesthesiology* 2004;100:193-4; author reply 194.
- 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.
- Mynster T. Re: Miller ME et al. Effects of age of transfused blood on length of stay in trauma patients: a preliminary report. *J Trauma* 2003;55:390-1.
- Mynster T, Nielsen HJ. The impact of storage time of transfused blood on postoperative infectious complications in rectal cancer surgery. *Scan J Gastroenterol* 2000;35:212-7.
- Mynster T, Nielsen HJ. Storage time of transfused blood and disease recurrence after colorectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum* 2001;44:955-64.
- Nahra R, Rachoin J, Mazen K, Mathew S, Schorr C, Gerber D. Impact of age of blood on nosocomial infections in critically-ill patients. *Chest Meeting Abstracts* 2008;134:s48003.
- Napolitano LM, Corwin HL. Efficacy of blood transfusion in the critically ill: Does age of blood make a difference? *Crit Care Med* 2004;32:594-5.
- Netzer G, Dutton RP, Hess JR. Right data, wrong conclusions. *Crit Care Med* 2008;36:1383-4.
- Offner P. Age of blood. Does it make a difference? *Crit Care* 2004;8(Suppl 2):S24-S26.
- Offner P, Moore EE, Biffl WL, Johnson JL, Silliman CC. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Arch Surg* 2002;137:711-6.
- Parthasarathi K, Lipowsky HH. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability. *Am J Physiol* 1999;277:H2145-57.
- Patel MB, Proctor KG, Majetschak M. Extracellular ubiquitin increases in packed red blood cell units during storage. *J Surg Res* 2006;135:226-32.
- Pavenski K, Saidenberg E, Lavoie M, Tokessy M, Branch DR. Red blood cell storage lesions and related transfusion issues: a Canadian Blood Services Research and Development Symposium. *Transfus Med Rev* 2011;25:*in press*.
- Pettilä V, Westbrook AJ, Nichol AD, Bailey MJ, Wood EM, Syres G, et al. Age of red blood cells and mortality in the critically ill. *Crit Care* 2011;15:R116.

- Prins HA, Houdijk AP, Nijveldt RJ, Teerlink T, Huygens P, Thijs LG, et al. Arginase release from red blood cells: possible link in transfusion induced immune suppression? *Shock* 2001;16:113-5.
- 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.
- Raat NJ, Verhoeven AJ, Mik EG, Gouwerok CW, Verhaar R, Goedhart PT, et al. The effect of storage time of human red cells on intestinal microcirculatory oxygenation in a rat isovolemic exchange model. *Crit Care Med* 2005;33:39-45; discussion 238-9.
- Raat NJ, Hilarius PM, Johannes T, de Korte D, Ince C, Verhoeven AJ. Rejuvenation of stored human red blood cells reverses the renal microvascular oxygenation deficit in an isovolemic transfusion model in rats. *Transfusion* 2009;49:427-4.
- Racek J, Herynkova R, Holecek V, Jerabek Z, Slama V. Influence of antioxidants on the quality of stored blood. *Vox Sang* 1997;72:16-9.
- Racek J, Herynkova R, Holecek V, Faltysova J, Krejcova I. What is the source of free radicals causing hemolysis in stored blood? *Physiol Res* 2001;50:383-8.
- Ran Q, Hao P, Xiao Y, Zhao J, Ye X, Li Z. Effect of irradiation and/or leucocyte filtration on RBC storage lesions. *PLoS One* 2011;6(3):e18328.
- Ranucci M, Carlucci C, Isgrò G, Boncilli A, De Benedetti D, De la Torre T, et al. Duration of red blood cell storage and outcomes in pediatric cardiac surgery: an association found for pump prime blood. *Crit Care* 2009;13:R207.
- Rao RS, Howard CA, Teague TK. Pulmonary endothelial permeability is increased by fluid from packed red blood cell units but not by fluid from clinically-available washed units. *J Trauma* 2006;60:851-8.
- Raval JS, Waters JH, Seltsam A, Scharberg EA, Richter E, Kameneva MV, et al. Menopausal status affects the susceptibility of stored RBCs to mechanical stress. *Vox Sang* 2011;100:418-21.
- Reeves BC, Murphy GJ. Increased mortality, morbidity, and cost associated with red blood cell transfusion after cardiac surgery. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008;21:669-73.
- Reynolds JD, Hess DT, Stamler JS. The transfusion problem: role of aberrant S-nitrosylation. *Transfusion* 2011;51:852-8.
- Reynolds JD, Ahearn GS, Angelo M, Zhang J, Cobb F, Stamler JS. S-nitrosohemoglobin deficiency: a mechanism for loss of physiological activity in banked blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17058-62.
- Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368-77.
- Roback JD, Neuman RB, Quyyumi A, Sutliff R. Insufficient nitric oxide bioavailability: a hypothesis to explain adverse effects of red blood cell transfusion. *Transfusion* 2011;51:859-66.
- 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.
- Roeloffzen WWH, Kluin-Nelemans HC, Bosman L, deWolf JThM. Effects of red blood cells on hemostasis. *Transfusion* 2010;50:1536-44.
- Rosenbaum L, Tomasulo P, Lipton KS, Ness P. The reintroduction of nonleukoreduced blood: would patients and clinicians agree? *Transfusion* 2011;51:*in press*.
- Rubin O, Crettaz D, Canellini G, Tissot JD, Lion N. Microparticles in stored red blood cells: an approach using flow cytometry and proteomic tools. *Vox Sang* 2008;95:288-97.
- Sadallah S, Eken C, Schifferli JA. Erythrocyte-derived ectosomes have immunosuppressive properties. *J Leukoc Biol* 2008;84:1316-25.
- Sakr Y, Chierago M, Piagnerelli M, Verdant C, Dubois MJ, Koch M, et al. Microvascular response to red blood cell transfusion in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2007;35:1639-44.
- Salzer U, Zhu R, Luten M, Isobe H, Pastushenko V, Perkmann T, et al. Vesicles generated during storage of red cells are rich in the lipid raft marker stomatin. *Transfusion* 2008;48:451-62.
- Sanders J, Patel S, Cooper J, Berryman J, Farrar D, Mythen M, et al. Red blood cell storage is associated with length of stay and renal complications after cardiac surgery. *Transfusion* 2011;51:*in press*.

- Sharifi S, Dzik WH, Sadrzadeh SM. Human plasma and tirilazad mesylate protect stored human erythrocytes against the oxidative damage of gamma-irradiation. *Transfus Med* 2000;10:125-30.
- Schechter AN, Gladwin MT. Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide. *N Engl J Med* 2003;348:1483-5.
- Schmith MJ, Stiefl MF, Magge S, Frangos S, Bloom S, Gracias V, LeRoux PD. Packed red blood cell transfusion increases local cerebral oxygenation. *Crit Care Med* 2005;33:1104-8.
- Schulman CI, Nathe K, Brown M, Cohn SM. Impact of age of transfused blood in the trauma patient. *J Trauma* 2002;52:1224-5.
- Seghatchian J, Krailadsiri P. Red cell storage lesion assessed by the levels of potassium, haemoglobin and Annexin V in supernatants. *Transfus Apher Sci* 2002;26:139-43.
- Shehata N, Naglie G, Alghamdi AA, Callum J, Mazer CD, Hebert P, et al. Risk factors for red cell transfusion in adults undergoing coronary artery bypass surgery: a systematic review. *Vox Sang* 2007;93:1-11.
- Silliman CC, Paterson AJ, Dickey WO, Stroneck DF, Popovsky MA, Caldwell SA, et al. The association of biologically active lipids with the development of transfusion-related acute lung injury: a retrospective study. *Transfusion* 1997;37:719-26.
- Silliman CC, Moore EE, Kelher MR, Khan SY, Gellar L, Elzi DJ. Identification of lipids that accumulate during the routine storage of prestorage leukoreduced red blood cells and cause acute lung injury. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
- Simeone F, Franchi F, Cevenini G, Marullo A, Fossombroni V, Scolletta S, et al. A simple clinical model for planning transfusion quantities in heart surgery. *BMC Med Inform Decis Mak* 2011;11:44.
- Solheim BG, Flesland O, Seghatchian J, Brosstad F. Clinical implications of red blood cell and platelet storage lesions: an overview. *Transfus Apher Sci* 2004;31:185-9.
- Sparrow R, Healey G. Reduced expression of CD47 on stored red blood cells. *Transfusion* 2006;46:1263.
- Sparrow RL, Patton KA. Supernatant from stored red blood cell primes inflammatory cells: influence of prestorage white cell reduction. *Transfusion* 2004;44:722-30.
- Sparrow RL, Veale MF, Healey G, Payne KA. Red blood cell (RBC) age at collection and storage influences RBC membrane-associated carbohydrates and lectin binding. *Transfusion* 2007;47:966-8.
- 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* 2009;13:R151.
- Spinella PC, Tucci M. Age of Blood in Children in the Pediatric ICU (ABC-PICU) Study Summary; 2009 [accessed 2011 August 5]. Available from: URL: <http://www.anemia.org/research/seeking/ABCPCICU.pdf>
- Steiner ME, Stowell C. Does red blood cell storage affect clinical outcome? When in doubt, do the experiment. *Transfusion* 2009;49:1286-90.
- Steiner ME, Assmann SF, Levy JH, Marshall J, Pulkrabek S, Sloan SR, et al. Addressing the question of the effect of RBC storage on clinical outcomes: The Red Cell Storage Duration Study (RECESS) (Section 7). *Transfus Apher Sci* 2010;43:107-16.
- Stowell CP. Effects of storage on the biology and clinical efficacy of the banked red blood cell. *Transfus Apher Sci* 2010;43:45-7.
- STS Workforce on Evidence Based Surgery. 2011 update to the Society of Thoracic Surgeons and the Society of Cardiovascular Anesthesiologists blood conservation clinical practice guidelines. *Ann Thorac Surg* 2011;91:944-82.
- Sweeney J, Kouttab N, Kurtis J. Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation. *Transfusion* 2009;49:1569-79.
- Szymanski IO, Teno RA, Lockwood WB, Hudgens R, Johnson GS. Effect of rejuvenation and frozen storage on 42-day-old AS-1 RBCs. *Transfusion* 2001;41:550-5.
- Taylor RW, O'Brien J, Trottier SJ, Manganaro L, Cytron M, Lesko MF, et al. Red blood cell transfusions and nosocomial infections in critically ill patients. *Crit Care Med* 2006;34:2302-8.
- Timmouth A, Chin-Yee I. The clinical consequences of the red cell storage lesion. *Transfus Med Rev* 2001;15:91-107.

- Tinmouth A, Fergusson D, Yee IC, Hébert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006;46:2014-27.
- Triulzi DJ, Yazer MH. Clinical studies of the effect of blood storage on patient outcomes. *Transfus Apher Sci* 2010;43:95-106.
- Tsai AG, Cabrales P, Intaglietta M. Microvascular perfusion upon exchange transfusion with stored red blood cells in normovolemic anemic conditions. *Transfusion* 2004;44:1626-34.
- Vamvakas EC. Meta-analysis of randomized controlled trials investigating the risk of postoperative infection in association with white blood cell-containing allogeneic blood transfusion: the effects of the type of transfused red blood cell product and surgical setting. *Transfus Med Rev* 2002;16:304-14.
- Vamvakas EC. WBC-containing allogeneic blood transfusion and mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transfusion* 2003;43:963-73.
- Vamvakas EC. White-blood-cell-containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: an updated meta-analysis. *Vox Sang* 2007;92:224-32.
- Vamvakas EC. Meta-analysis of clinical studies of the purported deleterious effects of "old" (versus "fresh") red blood cells: are we at equipoise? *Transfusion* 2010;50:600-10.
- Vamvakas EC. Purported deleterious effects of "old" versus "fresh" red blood cells: an updated meta-analysis. *Transfusion* 2011;51:1122-3.
- Vamvakas EC. Establishing causation in transfusion medicine and related tribulations. *Transfus Med Rev* 2011b;25:81-8.
- Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update. *Blood Rev* 2007;21:327-48.
- 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.
- 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.
- Vamvakas EC, Carven JH. RBC transfusion and postoperative length of stay in the hospital or the intensive care unit among patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the effects of confounding factors. *Transfusion* 2000b;40:832-9.
- van Bommel J, de Korte D, Lind A, Siegemund M, Trouwborst A, Verhoeven AJ, et al. The effect of the transfusion of stored RBCs on intestinal microvascular oxygenation in the rat. *Transfusion* 2001;41:1515-23.
- van de Watering L. Clinical studies investigating adverse effects of stored red blood cells [lecture abstract]. *Blood Transfus* 2009;7 (Suppl 1):LE10.
- van de Watering L. Red cell storage and prognosis. *Vox Sang* 2011;100:36-45.
- van de Watering L, Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Pitfalls in the current published observational literature on the effects of red blood cell storage. *Transfusion* 2011;51:1847-54.
- van de Watering L, Brand A. Effects of storage of red cells. *Transfus Med Hemother* 2008;35:359-67.
- van de Watering L, Lorinser J, Versteegh M, Westendorp R, Brand A. Effects of storage time of red blood cell transfusions on the prognosis of coronary artery bypass graft patients. *Transfusion* 2006;46:1712-8.
- Vandromme MJ, McGwin G Jr, Weinberg JA. Blood transfusion in the critically ill: does storage age matter? *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2009;17:35.
- van Straten AH, Soliman Hamad MA, Zundert AA, Martens EJ, Woorst JF, Wolf AM, et al. Effect of duration of red blood cell storage on early and late mortality after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;141:231-7.
- Verhoeven AJ, Hilarius PM, Dekkers DW, Lagerberg JW, de Korte D. Prolonged storage of red blood cells affects aminophospholipid translocase activity. *Vox Sang* 2006; 91:244-51.
- Vlaar AP, Kulik W, Nieuwland R, Peters CP, Tool AT, van Bruggen R, et al. Accumulation of bioactive lipids during storage of blood products is not cell but plasma derived and temperature dependent. *Transfusion* 2011;51:*in press*.

- Wallis JP, Wells AW, Babb RG, Stainsby D, Hamilton PJ. Effect of storage age of transfused blood on 48 hour Hb increment and recovery of 2,3 DPG in haematology patients. *Br J Haematol* 2005;129(Suppl 1):1.
- 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.
- Wasser MN, Houbiers JG, D'Amaro J, Hermans J, Huysmans HA, van Konijnenburg GC, et al. The effect of fresh versus stored blood on post-operative bleeding after coronary bypass surgery: a prospective randomized study. *Br J Haematol* 1989;72:81-4.
- Weil MH. Does the storage time of transfused red blood cells influence critically ill patients? *Crit Care Med* 2004;32:1443-4; author reply 144-5.
- Weinberg JA, McGwin G, Jr., Griffin RL, Huynh VQ, Cherry SA 3rd, Marques MB, et al. Age of transfused blood: an independent predictor of mortality despite universal leukoreduction. *J Trauma* 2008;65:279-82; discussion 282-4.
- Weinberg JA, McGwin G, Jr., Marques MB, Cherry SA 3rd, Reiff DA, Kerby JD, et al. Transfusions in the less severely injured: does age of transfused blood affect outcomes? *J Trauma* 2008b;65:794-8.
- Weinberg, JA, Barnum SR, Patel RP. Red blood cell age and potentiation of transfusion-related pathology in trauma patients. *Transfusion* 2011;51:867-73.
- Weisbach V, Wanke C, Zingsem J, Zimmermann R, Eckstein R. Cytokine generation in whole blood, leukocyte-depleted and temporarily warmed red blood cell concentrates. *Vox Sang* 1999;76:100-6.
- Weiskopf RB, Feiner J, Hopf H, Lieberman J, Finlay HE, Quah C, et al. Fresh blood and aged stored blood are equally efficacious in immediately reversing anemia-induced brain oxygenation deficits in humans. *Anesthesiology* 2006;104:911-20.
- Whillier S, Raftos JE, Sparrow RL, Kuchel PW. The effects of long-term storage of human red blood cells on the glutathione synthesis rate and steady-state concentration. *Transfusion* 2011;51:1450-9.
- Wilkinson KL, Brunskill SJ, Dorée C, Hopewell S, Stanworth S, Murphy MF, et al. The clinical effects of red blood cell transfusions: an overview of the randomized controlled trials evidence base. *Transfus Med Rev* 2011;25:145-55.
- Winslow RM, Intaglietta M. Red cell age and loss of function: advance or SNO-job? *Transfusion* 2008;48:411-4.
- Xiong Z, Cavaretta J, Qu L, Stolz DB, Triulzi D, Lee JS. Red blood cell microparticles show altered inflammatory chemokine binding and release ligand upon interaction with platelets. *Transfusion* 2011;51:610-21.
- Yap CH, Lau L, Krishnaswamy M, Gaskell M, Yii M. Age of transfused red cells and early outcomes after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2008;86:554-9.
- Yoshida T, AuBuchon JP, Tryzelaar L, Foster KY, Bitensky MW. Extended storage of red blood cells under anaerobic conditions. *Vox Sang* 2007;92:22-31.
- Yoshida T, Shevkoplyas SS. Anaerobic storage of red blood cells. *Blood Transfus* 2010;8:220-36.
- Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, et al. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1999;178:570-2.
- Zehnder L, Schulzki T, Goede JS, Hayes J, Reinhart WH. Erythrocyte storage in hypertonic (SAGM) or isotonic (PAGGSM) conservation medium: influence on cell properties. *Vox Sang* 2008;95:280-7.
- Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang* 2009;96:93-103.
- Zubair AC. Clinical impact of blood storage lesions. *Am J Hematol* 2010;85:117-22.

5. COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

Tous les experts ont participé *à titre personnel* au groupe de travail. Les noms des membres et experts du CSS sont annotés d'un astérisque *.

Les experts suivants ont participé à l'élaboration de l'avis:

ANTOINE Martine	chirurgie cardiaque	ULB
DENEYS Véronique*	transfusion	Service du Sang, Croix Rouge de Belgique; UCL
LATINNE Dominique*	biologie hématologique	UCL
MUYLLE Ludo*	sang, tissus et cellules	UA; UZA; AFMPS
SELLESLAG Dominik	médecine interne; hématologie	AZBrugge
SZABO Bertrand	transfusion	Clinique Reine Astrid Malmédy

Le groupe de travail a été présidé par Mme Véronique DENEYS et le secrétariat scientifique a été assuré par Roland HÜBNER.

Au sujet du Conseil Supérieur de la Santé (CSS)

Le Conseil Supérieur de la Santé est un service fédéral relevant du SPF Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement. Il a été fondé en 1849 et rend des avis scientifiques relatifs à la santé publique aux ministres de la santé publique et de l'environnement, à leurs administrations et à quelques agences. Ces avis sont émis sur demande ou d'initiative. Le CSS ne prend pas de décisions en matière de politique à mener, il ne les exécute pas mais il tente d'indiquer aux décideurs politiques la voie à suivre en matière de santé publique sur base des connaissances scientifiques les plus récentes.

Outre son secrétariat interne composé d'environ 25 collaborateurs, le Conseil fait appel à un large réseau de plus de 500 experts (professeurs d'université, collaborateurs d'institutions scientifiques), parmi lesquels 200 sont nommés à titre d'expert du Conseil. Les experts se réunissent au sein de groupes de travail pluridisciplinaires afin d'élaborer les avis.

En tant qu'organe officiel, le Conseil Supérieur de la Santé estime fondamental de garantir la neutralité et l'impartialité des avis scientifiques qu'il délivre. A cette fin, il s'est doté d'une structure, de règles et de procédures permettant de répondre efficacement à ces besoins et ce, à chaque étape du cheminement des avis. Les étapes clé dans cette matière sont l'analyse préalable de la demande, la désignation des experts au sein des groupes de travail, l'application d'un système de gestion des conflits d'intérêts potentiels (reposant sur des déclarations d'intérêt, un examen des conflits possibles, et un comité référent) et la validation finale des avis par le Collège (ultime organe décisionnel). Cet ensemble cohérent doit permettre la délivrance d'avis basés sur l'expertise scientifique la plus pointue disponible et ce, dans la plus grande impartialité possible.

Les avis des groupes de travail sont présentés au Collège. Après validation, ils sont transmis au requérant et au ministre de la santé publique et sont rendus publics sur le site internet (www.css-hgr.be), sauf en ce qui concerne les avis confidentiels. Un certain nombre d'entre eux sont en outre communiqués à la presse et aux groupes cibles parmi les professionnels du secteur des soins de santé.

Le CSS est également un partenaire actif dans le cadre de la construction du réseau EuSANH (*European Science Advisory Network for Health*), dont le but est d'élaborer des avis au niveau européen.

Si vous souhaitez rester informé des activités et publications du CSS, vous pouvez envoyer un e-mail à info.hgr-css@health.belgium.be