

Université de Montréal

**Évaluation de l'effet clinique de la durée d'entreposage
des culots érythrocytaires chez les enfants admis aux
soins intensifs**

par

Oliver Karam

Programme de Sciences biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des Etudes Supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en Sciences (M. Sc.)
en Sciences biomédicales
option Recherche clinique

Février 2011

© Oliver Karam, 2011

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Évaluation de l'effet clinique de la durée d'entreposage des culots érythrocytaires chez les
enfants admis aux soins intensifs

Présenté par :
Oliver Karam

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Jean-François Hardy, président-rapporteur
Jacques Lacroix, directeur de recherche
Marisa Tucci, co-directeur
Vincent Laroche, membre du jury

Résumé

Les transfusions de culots érythrocytaires (CE) sont un traitement fréquent en soins intensifs pédiatriques. Des études chez l'adulte suggèrent qu'une durée prolongée d'entreposage des CE est associée à une mauvaise évolution clinique. Aucune étude prospective n'a été conduite en pédiatrie. Notre objectif était d'évaluer l'effet clinique de la durée d'entreposage des CE chez des patients de soins intensifs pédiatriques. Nous avons donc conduit une étude observationnelle prospective dans 30 centres de soins intensifs pédiatriques en Amérique du Nord, chez tous les patients consécutifs de moins de 18 ans, séjournant aux soins intensifs pendant plus de 48 heures. Le critère de jugement primaire était l'incidence de cas de syndrome de défaillance multiviscérale après transfusion. Les critères de jugement secondaire étaient la mortalité à 28 jours et la durée d'hospitalisation aux soins intensifs. En utilisant un modèle de régression logistique, les risques relatifs furent ajustés pour le sexe, l'âge, la sévérité de la maladie à l'admission, le nombre total de transfusions et la dose totale de transfusion. L'étude a montré que les patients recevant des CE entreposés pendant 14 jours ou plus avaient un risque relatif ajusté de 1.87 (IC 95% 1.04 :3.27, $p=0.03$) de contracter ou de détériorer un syndrome de défaillance multiviscérale après transfusion. Ces mêmes patients avaient une durée d'hospitalisation aux soins intensifs prolongée (+3.7 jours, $p<0.001$), mais pas de risque augmenté de mortalité. En conclusion, chez les patients de soins intensifs pédiatriques, la transfusion de CE entreposés 14 jours ou plus est associée avec une augmentation de l'incidence de syndrome de défaillance multiviscérale et une durée d'hospitalisation prolongée aux soins intensifs.

Mots-clés : Érythrocytes, transfusion, évaluation de l'évolution clinique, insuffisance multi-systémique, soins intensifs pédiatriques, transfusion

Abstract

Transfusion is a common treatment in pediatric intensive care units. Studies in adults suggest that prolonged storage of red blood cell units is associated with worse clinical outcome. No prospective study has been conducted in children. Our objectives were to assess the clinical impact of the length of storage of red blood cell units on clinical outcome in critically ill children. We conducted a prospective, observational study in 30 North American centers, in consecutive patients aged <18 years with a stay ≥ 48 hours in a pediatric intensive care unit. The primary outcome measure was the incidence of multiple organ dysfunction syndrome after transfusion. The secondary outcomes were 28-day mortality and pediatric intensive care unit length of stay. Odds ratios were adjusted for gender, age, number of organ dysfunctions at admission, total number of transfusions, and total dose of transfusion, using a multiple logistic regression model. Our study showed that for patients receiving blood stored ≥ 14 days, the adjusted odds ratio for an increased incidence of multiple organ dysfunction syndrome was 1.87 (95% CI 1.04;3.27, $p=0.03$). There was also a significant difference in the total pediatric intensive care unit length of stay (adjusted median difference +3.7 days, $p<0.001$) but no significant change in mortality. In critically ill children, transfusion of red blood cell units stored for ≥ 14 days is independently associated with an increased occurrence of multiple organ dysfunction syndrome and prolonged PICU stay.

Keywords : Erythrocyte, transfusion, outcome assessment, multiple organ failure, pediatric intensive care, transfusion

Table des matières

Chapitre 1. Introduction	1
1.1 Transfusions sanguines aux soins intensifs.....	1
1.2 Transport d'oxygène et consommation d'oxygène	1
1.3 Effets cliniques des transfusions	5
1.4 Historique des transfusions et de l'entreposage des culots érythrocytaires	6
1.5 Changements biologiques liés à l'entreposage	8
1.6 Conséquences immunologiques.....	9
1.7 Effets cliniques de la durée d'entreposage.....	10
1.8 Problématique et objectifs de l'étude.....	14
Chapitre 2. Méthodologie.....	15
2.1 Hypothèse de l'étude et devis méthodologique	15
2.2 Objectifs et devis de l'étude primaire	15
2.3 Patients et sites	16
2.3.1 Critères d'éligibilité	16
2.3.2 Critères d'inclusion.....	16
2.3.3 Critères d'exclusion	16
2.3.4 Sites.....	17
2.4 Variables indépendantes.....	17
2.5 Critères de jugement	18
2.5.1 Critère de jugement primaire	18
2.5.2 Critères de jugement secondaire	19
2.6 Analyses statistiques	19
2.6.1 Taille d'échantillon	19
2.6.2 Evaluation de l'adéquation de la base de données	20
2.6.3 Analyse univariée.....	20
2.6.4 Modèle de régression logistique.....	21
2.6.5 Modèle de régression de Cox.....	21

Chapitre 3. Article	23
Chapitre 4. Synthèse.....	31
4.1 Evaluation de la validité interne de l'étude.....	31
4.1.1 Evaluation de la variable indépendante.....	31
4.1.2 Evaluation de l'analyse statistique	32
4.1.3 Biais liés à la validité interne	34
4.2 Evaluation de la validité externe de l'étude	38
4.2.1 Patients	38
4.2.2 Les critères de jugements et leurs estimations	39
4.2.3 Biais liés à la validité externe.....	44
4.2.4 Interprétation des résultats	45
4.2 Comparaisons avec d'autres études	45
4.2.1 Étude de Leal-Noval <i>et al</i> en 2003.....	46
4.2.2 Étude de Koch <i>et al</i> en 2008	48
4.2.3 Étude de Van de Watering <i>et al</i> en 2008.....	49
4.2.4 Étude de Edgren <i>et al</i> en 2010	50
4.2.5 Étude de Kneyber <i>et al</i> en 2009	51
4.3 Prochaine étape : une étude randomisée	52
4.4 Conséquences cliniques	54
4.4.1 Adaptation des limites de la durée d'entreposage.....	54
4.4.2 Impacts de ces adaptations de limites de durée d'entreposage	54
5 Conclusion.....	56
Bibliographie.....	58
Annexe 1 : Critères de défaillance multi-systémique	i
Annexe 2 : Score de PELOD	iii
Annexe 3 : Score de PRISM III	iv

Liste des tableaux

Tableau 1 : Estimation du biais de sélection

Tableau 2 : Estimation du biais d'information

Liste des figures

Figure 1 : Relation entre transport d'oxygène et consommation d'oxygène

Liste des signes et abréviations

2,3-DPG	2,3-diphosphoglycérate
ARDS	Insuffisance respiratoire aiguë (<i>Acute respiratory dysfunction syndrome</i>)
ATP	Adénosine triphosphate
CE	Culot érythrocytaire
CO	Débit cardiaque (<i>cardiac output</i>)
DO ₂	Transport d'oxygène (<i>delivery of oxygen</i>)
Hb	Hémoglobine
NO	Nitric oxide (oxyde nitrique)
PaO ₂	Pression partielle artérielle d'oxygène
PELOD score	Pediatric logistic organ dysfunction score
PRISM score	Pediatric Risk of Mortality score
P _t O ₂	Pression partielle tissulaire d'oxygène
SaO ₂	Saturation artérielle en oxygène
SDMV	Syndrome de défaillance multiviscérale (<i>multiple organ dysfunction syndrome, MODS</i>)
SvO ₂	Saturation veineuse centrale en oxygène
VO ₂	Consommation d'oxygène

*A Evelyne, Noreen et Eliott, pour tout
l'amour qu'ils m'ont donné!*

Remerciements

En mars 2007, plusieurs mois avant que je ne commence le fellowship, Jacques Lacroix m'avait demandé si ma femme et moi aurions besoin qu'il vienne nous chercher à l'aéroport, lors de notre immigration à Montréal. C'est cette générosité, cette disponibilité et cette gentillesse qui caractérisent le plus Jacques Lacroix. Par la suite, au cours des premiers mois du fellowship, Jacques Lacroix m'a proposé de travailler avec lui sur certaines de ses études évaluant les effets de la durée d'entreposage des érythrocytes. Grâce à son enseignement de la rigueur méthodologique et de l'art d'interpréter les données, nous avons pu publier plusieurs articles, dont celui de mon mémoire de maîtrise. Je lui serai éternellement reconnaissant de ces opportunités et de son enseignement!

Marisa Tucci a été mon mentor tout au cours de ce fellowship. Elle l'est devenue quand elle m'a supervisé lors d'une de mes toutes premières gardes, pendant laquelle nous avons passé toute une nuit à réanimer une patiente. Elle m'a ensuite appris l'art de la négociation et de la gestion d'équipe, ainsi qu'un vocabulaire imagé dont j'ignorais jusqu'à l'existence... Mais Marisa Tucci m'a surtout appris à rédiger les articles, et à transmettre clairement et logiquement des idées complexes. Sa disponibilité et sa gentillesse ont été exceptionnelles, et ses précieux encouragements m'ont permis de mener à bien cette maîtrise.

Mais les soins intensifs pédiatriques du CHU Sainte-Justine, ce sont aussi les autres médecins qui m'ont formé: Guillaume Emeriaud, Catherine Farrell, France Gauvin, Karen Harrington, Philippe Jovet, Jean-Sébastien Joyal, Catherine Litalien, Géraldine Pettersen, François Proulx, et Baruch Toledano. Ces médecins exceptionnels ont tous su me transmettre leurs passions pour la clinique mais aussi pour la recherche. Sans oublier les autres fellows: Alice, Allen, Bruno, Ghassan, Justine, Marie-Eve, Niina, Pierre, Valérie, et Wassim. Merci pour tous ces moments incroyables.

Enfin, mes plus sincères remerciements à Evelyne, Noreen et Elliott pour m'avoir accompagné dans cette aventure extraordinaire. Leur amour et leurs encouragements m'ont permis de passer trois années fantastiques, riches d'enseignements, de découvertes, de rires, et d'amitiés fortes.

Chapitre 1. Introduction

1.1 Transfusions sanguines aux soins intensifs

Les transfusions sanguines sont un traitement fréquent aux soins intensifs. Dans la population adulte, une grande étude multicentrique a démontré que 44% des patients traités pendant plus de 48 heures aux soins intensifs reçoivent au moins une transfusion de culot érythrocytaire¹. Dans des soins intensifs pédiatriques, la proportion est similaire, avec une incidence de transfusion de 14% de toutes les admissions², et de 49% chez les enfants admis pour au moins 48 heures³. Ces résultats montrent que la transfusion de culots érythrocytaires (CE) est d'autant plus fréquente que le patient est sévèrement malade.

En général, un patient est transfusé en raison d'une anémie, définie comme un taux d'hémoglobine (Hb) inférieure à la norme pour l'âge. Aux soins intensifs pédiatriques, 33% des enfants sont déjà anémiques dès l'admission, et 41% le deviennent au cours de leur hospitalisation. Ceci est dû notamment aux prises de sang répétées, aux hémorragies et aux pertes de sang pendant des interventions³, ainsi qu'à une réponse anormale à l'érythropoïétine et une érythropoïèse relativement inefficace⁴. Les médecins traitants prescrivent donc des transfusions pour normaliser le taux d'hémoglobine afin d'optimiser le transport et la consommation en oxygène.

1.2 Transport d'oxygène et consommation d'oxygène

L'oxygène est indispensable à la vie. En effet, chaque cellule de notre corps utilise l'oxygène pour produire son énergie et pouvoir fonctionner. Les molécules d'oxygène sont absorbées dans le corps par les poumons, et sont transportées vers toutes les cellules par le système circulatoire. L'oxygène, qui est peu soluble dans l'eau, est lié à l'hémoglobine, afin de faciliter son transport dans le sang. Chaque molécule d'hémoglobine a en effet la capacité de fixer 4 molécules d'oxygène, puis de relâcher cet oxygène dans les tissus. L'oxygène passe à travers la paroi des capillaires, et peut dès lors diffuser vers la cellule.

L'oxygène est alors utilisé par la cellule pour produire de l'énergie, qui est entreposée sous forme d'adénosine tri-phosphate (ATP).

Le transport d'oxygène global (Oxygen Delivery, DO_2) est défini par l'équation suivante :

$$DO_2 = CO \times [(Hb \times SaO_2 \times 1.34) + (0.003 \times PaO_2)]$$

où CO représente le débit cardiaque (cardiac output), Hb la concentration d'hémoglobine (en g/dl), SaO_2 la saturation artérielle en oxygène et PaO_2 la pression partielle artérielle en oxygène (en mmHg). On voit donc que le transport d'oxygène est directement proportionnel à la concentration d'hémoglobine, mais aussi au débit cardiaque et à la SaO_2 .

Alors que la DO_2 mesure la quantité d'oxygène reçue par les cellules, celles-ci n'en utilisent qu'une partie, estimée par la consommation d'oxygène (VO_2). La VO_2 est définie par l'équation suivante :

$$VO_2 = CO \times 1.34 \times Hb \times (SaO_2 - SvO_2)$$

où CO représente le débit cardiaque, Hb la concentration d'hémoglobine (en g/dl), SaO_2 la saturation artérielle en oxygène et SvO_2 la saturation veineuse centrale en oxygène. La courbe illustrant la relation entre DO_2 et VO_2 est caractérisée par deux parties (figure 1).

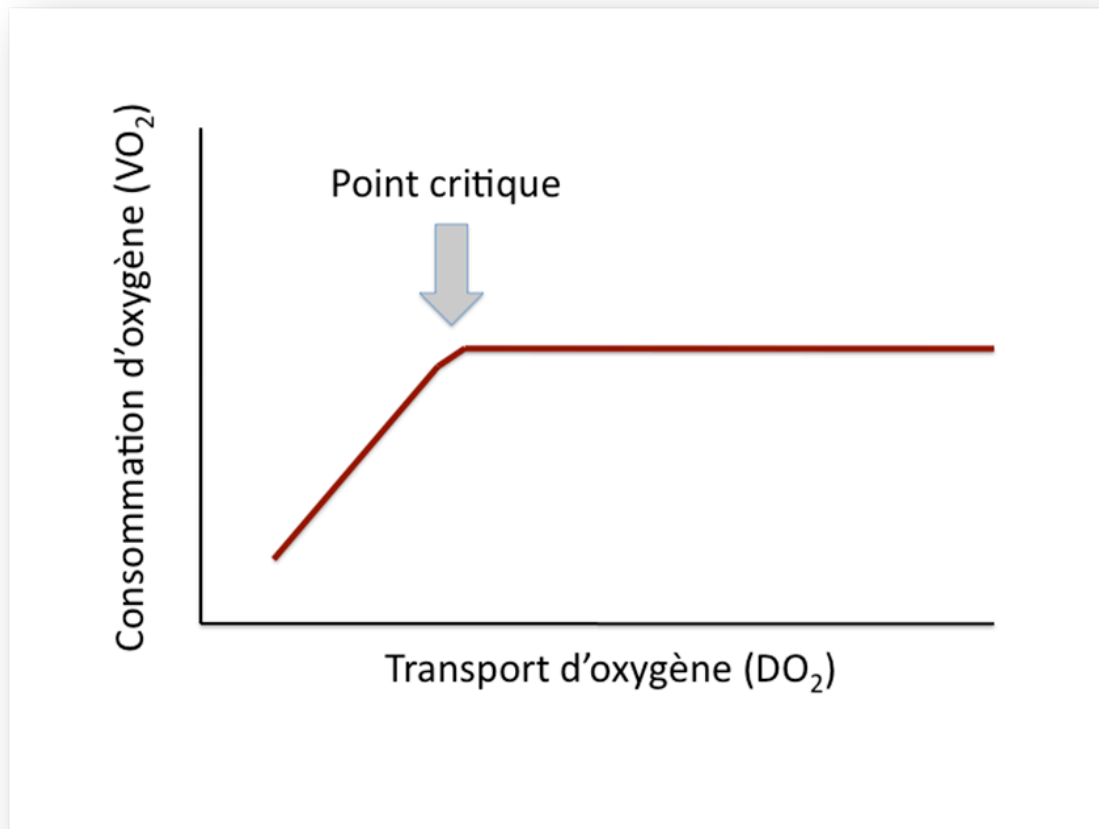


Figure 1 : Relation entre transport d'oxygène (DO₂) et consommation d'oxygène (VO₂)

Dans des conditions normales (partie droite de la courbe), la DO₂ est largement supérieure à la VO₂, et la VO₂ n'est pas dépendante de la DO₂. Dans cette zone, le corps s'adapte à une baisse de la DO₂ par une augmentation de l'extraction d'O₂, de la SaO₂ ou du débit cardiaque, sans baisse de la VO₂. Par contre, quand la DO₂ diminue suffisamment (partie gauche de la courbe), un point survient où les mécanismes compensateurs sont débordés et où la VO₂ diminue aussi. En dessous de ce point, nommé point critique, la VO₂ est dépendante de la DO₂. C'est dans cette situation qu'il est essentiel d'améliorer la DO₂, pour que les cellules puissent continuer à consommer de l'oxygène, et pour éviter de se

retrouver en métabolisme anaérobique. La transfusion de globules rouges constitue un traitement logique pour améliorer la VO_2 dans ces conditions si le patient est anémique.

La respiration cellulaire est anormale chez les patients en choc. Par définition, il y a état de choc s'il y a inadéquation entre la demande et l'apport d'oxygène. Ceci se traduit par une souffrance cellulaire par hypoxémie et le passage d'un métabolisme aérobie à un métabolisme anaérobie. Une insuffisance des organes les plus dépendants à l'apport d'oxygène peut s'ensuivre, avec une anurie par dysfonction rénale, une dysfonction hépatique, et une altération de l'état de conscience par hypoxémie cérébrale. Au niveau biologique, on assiste à la production de lactate, en raison du changement de métabolisme.

C'est donc ces patients en choc qui sembleraient pouvoir bénéficier au mieux d'une transfusion, étant donné l'effet direct de l'amélioration de la DO_2 sur la VO_2 . Plusieurs études se sont intéressées à évaluer l'effet d'une transfusion sur la consommation d'oxygène de tels patients. En 1993, Marik et Sibbald ont évalué par calorimétrie la consommation d'oxygène chez 23 patients septiques, ventilés mécaniquement dans une unité de soins intensifs, avant et après une transfusion⁵. Dans ce contexte clinique où la DO_2 est diminuée, ils ont montré l'absence de changement de la VO_2 malgré une transfusion. En 2001, dans une population similaire, Fernandes *et al* ont répété la même mesure chez 10 patients en choc septique, ventilés, avec une hémoglobine < 10 g/dl⁶. Ils ont aussi démontré l'absence d'amélioration de la consommation d'oxygène après une transfusion de culot érythrocytaire. Plus récemment, Walsh *et al* ont trouvé les mêmes résultats, chez 22 adultes aux soins intensifs, avec un syndrome de défaillance multiviscérale (SDMV; multiple organ dysfunction syndrome ou MODS en anglais)⁷. En pédiatrie, Mink et Pollack ont étudié 8 patients en choc septique⁸. Ils ont aussi démontré une augmentation de la DO_2 , sans amélioration de la VO_2 . Par contre, Lucking *et al* ont observé une amélioration de la DO_2 et de la VO_2 chez des patients en choc septique⁹. Dès lors, contrairement à ce qu'on penserait intuitivement, il n'est pas certain qu'une transfusion de culot érythrocytaire puisse réellement augmenter la consommation

d'oxygène, même si elle améliore le transport d'oxygène, tout du moins chez les patients sévèrement malades.

1.3 Effets cliniques des transfusions

Les transfusions de CE sont un traitement fréquent aux soins intensifs. En raison de l'incertitude sur leur efficacité à améliorer la consommation d'oxygène, il convient d'évaluer les effets potentiellement néfastes des transfusions, afin de pouvoir prescrire ces transfusions en toute connaissance de cause.

Plusieurs études se sont intéressées aux effets cliniques des transfusions sanguines. Récemment, Gong *et al* ont évalué l'effet des transfusions de CE chez 688 adultes admis dans un centre de soins intensifs¹⁰. Ils ont trouvé une association entre la transfusion de CE et la survenue de défaillance respiratoire (acute respiratory distress syndrome, ARDS). De plus, les transfusions de CE étaient aussi associées à une augmentation de la mortalité chez les patients avec ARDS, et cette relation variait avec le nombre de transfusions. Des résultats similaires ont été retrouvés dans des populations pédiatriques. En 2007, Kneyber *et al* ont publiés une étude observationnelle monocentrique, faite chez 295 enfants admis en soins intensifs pédiatriques. Tant dans l'analyse univariée que dans le modèle de régression logistique, les transfusions de CE étaient associées à une augmentation de la morbidité et de la mortalité¹¹. En 2008, Bateman *et al* ont publié une grande étude observationnelle multicentrique dans laquelle ils ont trouvé aussi une association entre le nombre de transfusions et le nombre d'infections nosocomiales, de dysfonctions cardio-respiratoires, et de décès³.

Ainsi, de nombreux articles suggèrent qu'il existe une association entre les transfusions de CE et une mauvaise évolution aux soins intensifs. Néanmoins, un nombre similaire d'articles ne retrouvent pas une telle association. Dès lors, comme il semble exister une équivoque clinique, il convient de continuer à étudier cette question.

1.4 Historique des transfusions et de l'entreposage des culots érythrocytaires

Le concept de transfusion est intimement lié au problème technique de prélever du sang chez le donneur pour le donner ensuite à un receveur.

Une des premières tentatives de transfusion à être rapportée est celle du pape Innocent VIII, qui tombe dans le coma en 1492. Du sang de trois enfants de 10 ans, à qui l'on avait promis un duché, est prélevé; le sang est ensuite administré au pape par la bouche, le concept d'accès vasculaire n'étant pas encore découvert. Malheureusement, tant le pape que les trois garçons décédèrent des suites de cette procédure¹².

En 1818, James Blundell, un obstétricien anglais, supposa qu'une transfusion de sang serait un traitement adapté aux hémorragies post-partum. Après 11 ans passés à mettre une technique au point en laboratoire sur des animaux (dont la découverte qu'il faut purger l'air des seringues contenant du sang), il réussit la première transfusion sur une patiente, en 1829. Il préleva 120 ml de sang d'une veine du bras de son mari, à l'aide d'une seringue, et le transfusa à la patiente, qui survécut. En 1840, James Blundell aide Samuel Armstrong Lane à transfuser du sang entier à un patient hémophile¹³.

En 1905, Alexis Carrel, un chirurgien français qui travaillait sur la chirurgie vasculaire au Rockefeller Institute for Medical Research, a été le premier à mettre au point chez l'animal d'abord une anastomose vasculaire entre une artère d'un donneur et une veine d'un receveur, permettant dès lors une transfusion directe à haut débit de sang non-coagulé. En 1907, George Crile perfectionne la technique, en décrivant une anastomose directe entre une artère radiale d'un adulte et une veine périphérique d'un autre¹⁴.

En 1915, Peyton Rous et J.R. Turner publient un article fondamental, décrivant divers moyens de conservation des produits sanguins, et principalement des érythrocytes. Ils décrivent une solution de citrate et de glucose qui permet de conserver le sang pendant quatre semaines¹⁵. Un de ses élèves, Oswald Robertson, envoyé sur les champs de batailles

en Europe pendant la Première Guerre Mondiale, entreprend de transfuser des blessés. Il publie en 1918 sa méthode d'entreposage¹⁶. Il rapporte son expérience avec du sang entreposé jusqu'à 26 jours, mais l'État Major américain ne lui permet qu'une durée d'entreposage de 5 jours, en raison de la crainte de contamination bactérienne.

Parallèlement aux perfectionnements des transfusions, on assiste à la découverte des groupes sanguins. En 1900, Karl Landsteiner, un médecin autrichien, décrit pour la première fois différents groupes sanguins, et l'hémolyse qui survient si on transfuse du sang de certains groupes sanguins chez des patients avec un autre groupe sanguin¹⁷. En 1907, Ludvig Hektoen publie dans JAMA un article décrivant les risques d'hémolyse dans les transfusions incompatibles¹⁸, mais ce n'est qu'en 1913 que Ottenberg publie aussi dans la JAMA l'idée du dépistage des groupes sanguins¹⁹.

Ce n'est qu'en 1943 que Loutit et Mollison²⁰ découvrent un processus qui permet la stérilisation des solutions d'entreposage, en ajoutant un acide pour permettre la stabilisation du glucose à haute température. Cette découverte est à l'origine de la première solution d'entreposage moderne.

Au cours des années suivantes, les solutions d'entreposage s'améliorent, permettant d'entreposer du sang de plus en plus longtemps. La durée maximale d'entreposage a été définie par le taux de survie des érythrocytes une fois transfusés. On transfuse du sang entreposé, marqué au Cr⁵¹, et on mesure la survie *in vivo* après 24 heures. La durée maximale d'entreposage est définie, entre autre, par un taux de survie moyenne des érythrocytes de plus de 75%, mesurée chez plus de vingt sujets sains, par deux laboratoires différents. D'autres critères s'appliquent, notamment une certaine proportion *in vitro* d'érythrocytes, de leucocytes et de plaquettes, ainsi que de 2,3-DPG²¹. Selon les différentes solutions d'entreposage, les CE peuvent être conservé jusqu'à 42 jours.

Ceci a aussi conduit à la création de banques de sang, qui permettent des économies d'échelle, en collectant le sang, en le testant et en le conditionnant. Les banques de sang permettent aussi de conserver des stocks de CE pour des groupes sanguins plus rares, ainsi

que l'instauration d'un meilleur système de contrôle de qualité. Ces banques de sang sont actuellement indispensables à n'importe quel système sanitaire moderne.

1.5 Changements biologiques liés à l'entreposage

L'entreposage des culots provoque plusieurs modifications biologiques des érythrocytes. On assiste à des changements progressifs dans la composition biochimique de la solution d'entreposage, avec une concentration de sodium qui passe de 135 à 105 mmol/l en 42 jours, et une concentration de potassium qui passe de 4 à 40 mmol/l sur la même période²². Cette concentration élevée de potassium dans les CE entreposés longtemps peut avoir des conséquences cliniques importantes, principalement chez les patients recevant de grande quantité de produits sanguins²³, pouvant même parfois mener à un arrêt cardiaque²⁴.

Au cours de l'entreposage, on assiste aussi à une diminution rapide de la concentration en 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG)²². Ceci peut potentiellement conduire à une diminution de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, et donc diminuer le transport en oxygène. De plus, des érythrocytes entreposés plus de quelques heures perdent leur capacité à fixer et à relarguer de l'oxyde nitrique (nitric oxide ou NO) en fonction de la saturation tissulaire en oxygène, de même que la capacité de synthèse de la S-nitrosohémoglobine²² (la contribution métabolique de cette voie étant par ailleurs débattue²⁵); il peut en résulter une hypertonie marquée des petits vaisseaux sanguins si marquée que le sang peut se mettre à court-circuiter complètement des régions qui seraient autrement abondamment perfusées²⁶.

On observe aussi des changements de la morphologie des érythrocytes qui passent de cellules biconcaves à des cellules sphériques spiculées (sphéro-échinocytes), en raison de la température et de l'acidité. Progressivement, on assiste aussi à une perte de petites portions de la membrane des érythrocytes, ce qui conduit à l'altération de la fonction de la membrane²⁷. Ces modifications engendrent une perte de la capacité de déformation des

globules rouges; ceux-ci peuvent devenir rigides au point de ne plus être capables de se faufiler dans les capillaires. De plus, l'entreposage perturbe l'adhésivité des globules rouges aux cellules endothéliales ce qui pourrait en théorie augmenter le risque d'obstruction vasculaire^{28,29}.

La durée d'entreposage influence aussi l'état oxydatif des érythrocytes qui perdent leur protection contre les radicaux libres (gluthation, superoxyde dismutase, etc.)²⁷. Ces radicaux libres contribuent à l'accumulation de lipides biologiquement actifs, comme les lysophospholipid platelet activating factors³⁰. D'autres ont mis en évidence des changements dans la concentration de phospholipase A2³¹, d'anticorps anti-HNA-3a³², d'ubiquitines³³, d'advanced glycation end-products³⁴, de phosphatidylsérine³⁵, ou encore de fer plasmatique non-lié à la transferrine³⁶. Toutes ces molécules semblent avoir des propriétés immunomodulatrices.

1.6 Conséquences immunologiques

Comme la durée d'entreposage modifie la composition des CE et induit la production de molécules actives immunologiquement, certains auteurs ont tenté de caractériser cette immunomodulation en mesurant certaines cytokines. Weisbach *et al* ont démontré une augmentation d'IL-1 β , de TNF- α et d'IL-6, en fonction de la durée d'entreposage³⁷. Wadhwa *et al* ont démontré une augmentation d'IL-8 et de TGF- β ³⁸. Néanmoins, ces mesures étaient faites avec du sang non-leucoréduit, c'est à dire qu'il contenait encore une grande quantité de leucocytes. Or, ceux-ci produisent aussi des cytokines pendant l'entreposage; on pouvait donc s'attendre à ce que la concentration de cytokines mesurée dans les CE augmente au cours de l'entreposage. Seghatchian *et al* ont démontré que la leucoréduction diminue considérablement la concentration de cytokines dans les CE³⁹.

La question suivante était donc : la leucoréduction abolit-elle toute activité pro- et anti-inflammatoire des CE? C'est pourquoi notre groupe a étudié l'immunomodulation induite *in vitro* par des CE leucoréduits avant entreposage⁴⁰. Dans un modèle *in vitro*, nous

avons montré que même en l'absence de leucocytes et de cytokines détectables dans les CE, le surnageant de ceux-ci provoquait une synthèse de cytokines après incubation avec une culture de cellules sanguines. De plus, cette immunomodulation *in vitro* changeait en fonction de la durée d'entreposage des CE, du sang frais induisant une combinaison de modulation pro- et anti-inflammatoire (augmentation d'IL-6 et IL-10), alors que du sang âgé provoquait surtout une activité anti-inflammatoire (TNF- α diminué et IL-10 augmenté). Ainsi, du moins *in vitro*, ceci suggère que l'immunomodulation induite par les transfusions de CE n'est pas uniquement attribuable à la présence de leucocytes dans les CE, mais aussi à d'autres facteurs. Par ailleurs, cette étude était la première à suggérer que la durée d'entreposage influence une certaine immunomodulation même lorsque le produit sanguin avait été déleucocyté.

1.7 Effets cliniques de la durée d'entreposage

Les preuves expérimentales que du sang entreposé pendant plus de quelques jours puisse provoquer *in vitro* des effets inflammatoires sont fortes; cela se traduit-il par des problèmes cliniques? Les premières études sur l'effet clinique de la durée d'entreposage des CE datent de l'année 1993; Heddle *et al* publient alors un article qui suggérait que le principal facteur de risque pour une réaction transfusionnelle fébrile non hémolytique était la durée d'entreposage⁴¹. La même année, Marik et Sibbald démontraient qu'une transfusion de CE entreposés plus de 15 jours était associée à une diminution de la DO₂, évaluée en mesurant le pH de la muqueuse gastrique⁵.

En 1999, Zallen *et al* rapportent une étude dans laquelle ils ont analysé les facteurs de risque de SDM_V chez 63 patients adultes, admis dans des soins intensifs de traumatologie⁴². Ils ont démontré que la durée d'entreposage des CE administrés dans les premières 6 heures de la prise en charge influençait la survenue de SDM_V. Leur modèle de régression logistique montrait que le nombre de transfusions entreposées > 14 jours, mais

aussi > 21 jours, était associé à la survenue de SDMV. Les auteurs concluaient que du sang frais pourrait être plus approprié pour des patients avec traumatisme.

En 2002, Offner *et al* rapportent leurs observations sur 61 patients adultes admis dans des soins intensifs adultes, ayant nécessité plus de 6 transfusions de CE. Afin d'évaluer si la durée d'entreposage des CE reçus pendant les 12 premières heures était associée à une augmentation du nombre d'infections, ils ont développé un modèle de régression logistique, ajusté pour l'âge, le sexe et la sévérité à l'admission. Ils ont trouvé que le nombre de transfusions entreposées > 14 jours était associé à un plus grand risque d'infections.

En 2003, Leal-Noval *et al* publient une étude observationnelle monocentrique de trois ans, et rapportent les effets de la durée d'entreposage des CE chez 795 patients adultes, ayant subi une chirurgie cardiaque. Ils ont trouvé que la durée d'entreposage des CE était associée à une augmentation du risque de pneumonie nosocomiale, mais n'était pas associée à la durée de ventilation, la durée de séjour aux soins intensifs ou encore la mortalité.

Voulant étudier l'impact de la durée d'entreposage de façon plus spécifique, le même groupe a évalué en 2008 l'effet de la durée d'entreposage des CE sur l'oxygénation cérébrale⁴³. Pour cela, ils ont mesuré la $P_{ti}O_2$ (pression partielle tissulaire d'oxygène) intracérébrale chez 66 patients admis dans une unité de soins intensifs, avec un diagnostic de traumatisme crânien sévère, au moyen d'une sonde de pression intracrânienne spéciale. Ils ont montré qu'une transfusion de CE entreposée ≤ 19 jours améliorait significativement l'oxygénation cérébrale (évaluée par la $P_{ti}O_2$), mais que du sang plus âgé (> 19 jours) ne permettait pas d'améliorer cette même $P_{ti}O_2$. En 2009, un autre groupe a aussi évalué la capacité d'améliorer l'oxygénation tissulaire en fonction de la durée d'entreposage. Dans une unité de soins intensifs de traumatologie, Kiraly *et al* ont randomisé 32 patients en trois groupes : une transfusion de < 21 jours, une transfusion de ≥ 21 jours, et un groupe contrôle⁴⁴. Ils ont mesuré la saturation de l'éminence thénar pendant la transfusion par une

méthode Near Infrared Spectrometry (NIRS), et ont démontré que la mesure de la saturation en oxygène tissulaire (StO₂) diminuait significativement après les transfusions de CE entreposés ≥ 21 jours. Ainsi, il semblerait que du sang entreposé plus longtemps ne permette pas d'améliorer l'oxygénation de différents tissus, que ce soit le cerveau ou les muscles de la main.

Deux grandes études récentes rapportent une association entre une augmentation de la mortalité et une durée d'entreposage prolongée. En 2008, Weinberg *et al* ont étudié l'effet de la durée d'entreposage des CE sur des patients admis dans une unité de soins intensifs de traumatologie. Ils ont analysé les données de 1813 patients admis dans leur centre entre 2000 et 2007, et ont trouvé une association entre la transfusion de plus de 6 CE de > 14 jours pendant les premières 24 heures et une augmentation de la mortalité (OR 2.18, CI 1.00–4.97). S'intéressant à une autre population, Koch *et al* publient aussi en 2008 leur étude observationnelle portant sur 6002 patients de chirurgie cardiaque adulte, opérés entre 1998 et 2006. Les patients qui avaient reçu des transfusions de CE entreposés pendant plus de 14 jours avaient un risque augmenté d'intubation prolongée (9.7% vs. 5.6%, $p < 0.001$), d'insuffisance rénale (2.7% vs. 1.6%, $p = 0.003$), de sepsis (4.0% vs. 2.8%, $p = 0.01$), et de mortalité (2.8% vs. 1.7%, $p = 0.004$).

D'un autre côté, plusieurs études n'ont pas permis de mettre en évidence d'effets défavorables liés à une durée prolongée d'entreposage. Au niveau tissulaire, Créteur *et al* ont mesuré l'oxygénation de l'éminence thénar pendant les transfusions de 44 patients adultes, admis dans une unité de soins intensifs de traumatologie⁴⁵, de façon assez similaire à l'étude de Kiraly *et al*⁴⁴. Néanmoins, ils n'ont pas pu mettre en évidence de diminution de la saturation musculaire en fonction de la durée d'entreposage des CE.

Dans une étude mono-centrique sur 2732 patients opérés d'un pontage coronarien, Van de Watering *et al* n'ont pas pu mettre en évidence d'association entre la durée d'entreposage des CE et la mortalité, après ajustements pour le nombre de transfusions, la sévérité de la coronaropathie et les données démographiques⁴⁶. De façon similaire, Yap *et*

al n'ont pas trouvé d'association indépendante entre la durée d'entreposage des CE et la mortalité ou la morbidité chez 670 patients adultes opérés d'un pontage coronarien ou d'un remplacement de valve aortique⁴⁷. Un autre groupe a étudié l'effet de la durée d'entreposage des CE dans une population de 534 adultes sévèrement malades, admis dans leur unité de soins intensifs entre 2005 et 2006⁴⁸. Ils rapportent que la mortalité était similaire entre les patients transfusés avec du sang < 14 jours par rapport aux autres (20.5% vs. 24.9%, $p=0.09$). De façon similaire, une grande étude observationnelle, portant sur 404 959 transfusions en Suède et au Danemark entre 1995 et 2002, n'a pas démontré d'augmentation significative de la mortalité en fonction de la durée d'entreposage⁴⁹. Ces quatre études suggèrent donc que la durée d'entreposage n'est peut-être pas un facteur de risque de mortalité chez l'adulte.

En pédiatrie, il n'y a qu'une seule étude qui s'est intéressée à la question. En 2007, Kneyber *et al* ont publié une étude observationnelle rétrospective évaluant l'impact des transfusions de CE sur la morbidité et la mortalité aux soins intensifs pédiatriques¹¹. Parmi les 295 patients admis dans leur unité entre janvier et décembre 2003, 67 avaient été transfusés. Dans un modèle de régression logistique ajustant pour la sévérité à l'admission et les données démographiques, les auteurs ont mis en évidence une association entre la transfusion de CE et la mortalité. En 2009, les mêmes auteurs ont publié une lettre à l'éditeur décrivant une nouvelle analyse *a posteriori* de cette même base de données, afin de déterminer si la durée d'entreposage était à l'origine de cette augmentation de la mortalité chez les patients transfusés. Parmi leurs 67 patients, ils n'ont pas trouvé de corrélation significative entre la mortalité et la durée d'entreposage. Ainsi, la seule étude pédiatrique sur l'effet de la durée d'entreposage des CE est une analyse *a posteriori* d'une petite étude rétrospective.

Ainsi, les implications cliniques de la durée d'entreposage sont encore sujettes à controverse. En effet, alors que plusieurs études observationnelles adultes semblent suggérer une association entre une durée prolongée d'entreposage des CE et une augmentation de la morbidité voire de la mortalité, d'autres études ne retrouvent pas de

telle association. Par ailleurs, aucune étude ne permet de démontrer une éventuelle causalité, étant donné l'absence d'étude randomisée.

1.8 Problématique et objectifs de l'étude

En conclusion, les transfusions de CE sont un traitement fréquent aux soins intensifs, tant adultes que pédiatriques. Même si ces transfusions devraient permettre un meilleur transport d'oxygène et donc améliorer l'adéquation entre le transport et la consommation d'oxygène, les données cliniques actuelles sont peu concluantes. Par contre, plusieurs études suggèrent que les transfusions pourraient même contribuer à une augmentation de la morbidité et de la mortalité, et ce peut-être à cause des changements biologiques qui s'opèrent à l'intérieur des culots pendant leur entreposage. Plusieurs grandes études observationnelles adultes suggèrent qu'une durée d'entreposage prolongée serait associée à une augmentation de la morbidité et de la mortalité, bien que certaines autres études ne retrouvent pas ces résultats. À l'heure actuelle, aucune étude pédiatrique n'a évalué de façon prospective une telle association.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet de la durée d'entreposage des CE sur le devenir clinique des enfants admis en soins intensifs pédiatriques.

Chapitre 2. Méthodologie

2.1 Hypothèse de l'étude et devis méthodologique

Afin d'évaluer l'association entre la durée d'entreposage des CE et le devenir clinique des patients de soins intensifs pédiatriques, nous avons formulé l'hypothèse suivante :

Dans une population de patients de soins intensifs pédiatriques sévèrement malades, la transfusion de culots érythrocytaires avec une durée d'entreposage prolongée est associée à une augmentation de la morbidité.

Nous avons choisi pour devis une étude observationnelle prospective multicentrique. Une telle étude épidémiologique permet d'inclure la grande majorité des patients éligibles, ce qui réduit les risques de biais de sélection.

Cette étude est une analyse secondaire d'une base de données provenant d'une étude épidémiologique sur les transfusions aux soins intensifs pédiatriques. Cette analyse avait été planifiée a priori, avant le début du recrutement des patients, et les données spécifiques à cette analyse secondaire ont été enregistrées de façon prospective dans le formulaire de récolte (*case report form*) initial.

2.2 Objectifs et devis de l'étude primaire

L'anémie étant fréquente chez les patients admis aux soins intensifs pédiatriques, l'étude primaire visait à comprendre l'épidémiologie de l'anémie, des pertes sanguines et des transfusions de CE dans les unités de soins intensifs pédiatriques. En effet, plusieurs causes peuvent contribuer à l'anémie de ces patients, comme l'anémie chronique liée aux maladies sous-jacentes, les pertes sanguines par hémorragie, des maladies ou traitements

induisant une suppression de l'érythropoïèse, ou les pertes sanguines dues aux prélèvements des tests de laboratoires. Cette étude visait aussi à évaluer le délai d'apparition de l'anémie et à noter le moment de la première transfusion de CE, afin de déterminer si un traitement stimulant la production d'érythrocytes, comme l'érythropoïétine, pourraient s'avérer utile, étant donné que ce genre de traitement ne commence à agir qu'au bout de quelques jours⁵⁰.

L'étude primaire a été publiée en 2008³. C'était une étude observationnelle de cohorte, prospective et multi-centrique; elle fut conduite dans 30 unités de soins intensifs pédiatriques.

2.3 Patients et sites

2.3.1 Critères d'éligibilité

Tous les patients consécutifs, admis dans une des unités de soins intensifs participante entre le 8 septembre 2004 et le 29 mars 2005, étaient éligibles.

2.3.2 Critères d'inclusion

Les patients étaient inclus dans l'étude dès que leur durée de séjour dépassait 48 heures, et qu'un consentement écrit avait été obtenu.

2.3.3 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Aucune durée d'entreposage connue

- Nouveau-nés prématurés (âge gestationnel < 37 semaines) au moment de l'admission aux soins intensifs
- Age > 18 ans
- Participation antérieure dans l'étude
- Antécédents familiaux de refus de transfusions sanguines
- Inclusion dans une autre étude relative aux produits sanguins
- Grossesse
- Mort cérébrale imminente
- Récente (< 7 jours) admission dans une unité de soins intensifs pendant > 72 heures

2.3.4 Sites

Trente unités de soins intensifs pédiatriques américaines et canadiennes faisant partie du *Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators (PALISI) Network* ont participé à cette étude observationnelle.

2.4 Variables indépendantes

Les données démographiques suivantes étaient récoltées : âge, sexe, poids, localisation du centre hospitalier, date d'admission à l'hôpital, et date d'admission aux soins intensifs pédiatriques.

Les données suivantes ont été mesurées à l'admission aux soins intensifs : pathologie conduisant à l'admission, sévérité de la maladie évaluée par le nombre d'organes insuffisants (tel que définis dans l'annexe 1), les scores PELOD⁵¹ (annexe 2) et PRISM⁵² (annexe 3), la présence de ventilation mécanique, et la présence de sepsis.

Tant les données démographiques que les données relatives à l'admission aux soins intensifs étaient relevées de façon rétrospective, pour les premières 48 heures d'hospitalisation aux soins intensifs, puis de façon prospective.

Les données suivantes, relatives à chaque transfusion aux soins intensifs, ont été mesurées quotidiennement, de façon prospective : nombre de transfusions, date de chaque transfusion, volume de chaque transfusion, et durée d'entreposage de chaque transfusion.

2.5 Critères de jugement

2.5.1 Critère de jugement primaire

Le critère de jugement primaire (*primary outcome*) était l'apparition d'un SDMV après la première transfusion, ou la progression d'un SDMV déjà présent au moment de la transfusion. Pour ce faire, nous avons évalué la fonction quotidienne de chaque organe à l'aide des critères de SDMV⁵³ décrits dans l'annexe 1. Sept systèmes étaient évalués : respiratoire, cardio-vasculaire, hématologique, neurologique, hépatique, gastro-intestinal et rénal. Par définition, il y avait SDMV si l'on observait la dysfonction d'au moins deux organes.

Ainsi, on considère qu'un patient qui n'a aucune ou une seule insuffisance d'organe avant la première transfusion de CE et qui développe une insuffisance multi-systémique (au moins deux organes) après la transfusion a développé le critère de jugement primaire (nouveau SDMV, *new MODS*). Un patient qui a déjà au moins deux insuffisances d'organe et qui en développe une nouvelle après la première transfusion a aussi développé le critère de jugement primaire (SDMV progressif, *progressive MODS*). Un patient qui décède est aussi considéré comme ayant développé le critère de jugement primaire, étant donné que le décès était considéré comme la survenue d'une insuffisance de tous les organes.

Ce critère de jugement primaire, utilisé dans d'autres études⁵⁴, a été nommé SDVM nouveau ou progressif (*new or progressive MODS*).

2.5.2 Critères de jugement secondaire

Les trois critères de jugement secondaire (*secondary outcomes*) étaient la durée d'hospitalisation aux soins intensifs, la mortalité et la durée entre la première transfusion et l'apparition du critère de jugement primaire.

La durée d'hospitalisation était mesurée en nombre de jours entre l'admission du patient dans l'unité de soins intensifs et son transfert vers une unité hospitalière (durée de séjour aux soins intensifs), son retour à la maison (durée hospitalière) ou son décès.

La mortalité fut relevée jusqu'à la fin de l'hospitalisation du patient.

La durée entre la première transfusion et l'apparition du critère de jugement primaire a été mesurée en nombre de jours entre la première transfusion et la survenue du SDMVs nouveau ou progressif. L'apparition d'une nouvelle dysfonction d'organes était surveillée sur une base quotidienne (en fonction de la date du calendrier) et non en heures.

2.6 Analyses statistiques

2.6.1 Taille d'échantillon

L'étude étant observationnelle, il avait été choisi *a priori* d'y inclure environ 1000 patients qui séjourneraient > 48 heures aux soins intensifs. Un échantillon de cette taille était considéré amplement suffisant pour détecter les facteurs de risque de transfusion de CE dont le risque relatif était de 2 ou plus, pour une valeur $p < 0.05$ (bilatéral) et une puissance de 0.8 si la prévalence de SDMVs chez les patients non transfusés était d'environ 10%⁵⁵.

2.6.2 Evaluation de l'adéquation de la base de données

L'adéquation de la base de données a été évaluée, afin de s'assurer que les données étaient plausibles. Nous avons trouvé que quelques variables n'avaient pas été saisies correctement :

- Les volumes de deux transfusions étaient erronés, dépassant la contenance d'une poche de transfusion. Nous avons donc supprimé ces données pour ces deux patients.
- Certaines durées d'entreposage étaient fausses, car inférieures à 2 jours ce qui est la durée minimale de la phase de tests et de préparation des CE. Nous avons donc supprimé ces données pour ces patients (n=4).
- Un des trente centres inscrivait systématiquement une durée d'entreposage d'un jour. Nous avons supprimé toutes les données de ce centre.

2.6.3 Analyse univariée

Afin de tester l'hypothèse selon laquelle une durée prolongée d'entreposage des CE serait associée à une augmentation de la morbidité, nous avons séparé les patients transfusés en deux groupes, selon la durée d'entreposage. Nous avons convenu d'utiliser une valeur seuil de durée d'entreposage qui soit la médiane des durées d'entreposage, valeur qui s'est avérée être de 14 jours. Les patients ont été attribués au groupe « *sang jeune* » si la durée d'entreposage était de moins de 14 jours, et au groupe « *sang vieux* » si la durée d'entreposage était de 14 jours ou plus. Pour des patients recevant plusieurs transfusions, la durée d'entreposage du culot érythrocytaire le plus âgé était utilisée.

L'analyse univariée a été faite avec un test de Chi-carré pour les variables catégorielles, et avec un t-test de Student pour les variables continues. Les corrélations entre deux variables continues ont été effectuées avec le test de corrélation de Pearson.

2.6.4 Modèle de régression logistique

Afin d'estimer l'effet indépendant de la durée d'entreposage des CE sur la morbidité des enfants admis aux soins intensifs, nous avons élaboré un modèle de régression logistique, en ajustant pour les variables associées (déterminées par l'analyse univariée) avec le critère de jugement primaire :

- Données démographiques : sexe et âge. Le poids et l'âge étant colinéaire, nous avons choisi d'ajuster pour l'âge et non pour le poids.
- Sévérité à l'admission : score de gravité à l'admission et présence d'une ventilation mécanique à l'admission. En fait plusieurs scores de sévérité avaient été mesurés (PELOD, SDMV, PRISM); tous étaient colinéaires. Les scores PRISM et PELOD étant associés, mais de façon non linéaire, à la variable dépendante, il aurait fallu les catégoriser. Nous avons donc choisi d'ajuster le modèle de régression en fonction du score de SDMV.
- Autres paramètres des transfusions : nombre total de transfusion et dose totale de transfusion. La dose totale de transfusion (en ml/kg) a été calculée en divisant le volume total transfusé pendant le séjour aux soins intensifs par le poids du patient.

Les variables d'ajustement ont été introduites dans le modèle de régression logistique par la méthode « entrée », et non par une méthode semi-automatique.

2.6.5 Modèle de régression de Cox

Afin de déterminer une durée d'hospitalisation ajustée, nous avons élaboré un modèle de régression de Cox, afin d'utiliser la durée d'hospitalisation comme une variable temporelle et non simplement comme une variable continue. Nous avons ajusté ce modèle pour les mêmes variables que le modèle de régression logistique. Les décès ont été considérés comme des censures.

Nous avons aussi évalué le temps entre la première transfusion et la survenue du critère de jugement primaire (*time to event analysis*) en utilisant un modèle semblable à celui de la durée d'hospitalisation. Par contre, dans ce modèle, le décès fut considéré comme la survenue du critère de jugement primaire, et ne fut donc pas censuré.

Chapitre 3. Article

Karam et al. *Critical Care* 2010, **14**:R57
<http://ccforum.com/content/14/2/R57>



RESEARCH

Open Access

Association between length of storage of red blood cell units and outcome of critically ill children: a prospective observational study

Oliver Karam¹, Marisa Tucci*¹, Scot T Bateman², Thierry Ducruet¹, Philip C Spinella^{3,4}, Adrienne G Randolph⁵ and Jacques Lacroix¹

Abstract

Introduction: Transfusion is a common treatment in pediatric intensive care units (PICUs). Studies in adults suggest that prolonged storage of red blood cell units is associated with worse clinical outcome. No prospective study has been conducted in children. Our objectives were to assess the clinical impact of the length of storage of red blood cell units on clinical outcome of critically ill children.

Methods: Prospective, observational study conducted in 30 North American centers, in consecutive patients aged <18 years with a stay \geq 48 hours in a PICU. The primary outcome measure was the incidence of multiple organ dysfunction syndrome after transfusion. The secondary outcomes were 28-day mortality and PICU length of stay. Odds ratios were adjusted for gender, age, number of organ dysfunctions at admission, total number of transfusions, and total dose of transfusion, using a multiple logistic regression model.

Results: The median length of storage was 14 days in 296 patients with documented length of storage. For patients receiving blood stored \geq 14 days, the adjusted odds ratio for an increased incidence of multiple organ dysfunction syndrome was 1.87 (95% CI 1.04;3.27, $P=0.03$). There was also a significant difference in the total PICU length of stay (adjusted median difference +3.7 days, $P<0.001$) and no significant change in mortality.

Conclusions: In critically ill children, transfusion of red blood cell units stored for \geq 14 days is independently associated with an increased occurrence of multiple organ dysfunction syndrome and prolonged PICU stay.

Introduction

Almost half of all critically ill patients, adults as well as children, admitted to a critical care unit for more than 48 hours will receive a red blood cell (RBC) transfusion during their stay [1,2]. RBC transfusions constitute a potentially life-saving intervention aimed at restoring hemoglobin levels, to maintain adequate oxygen delivery to vital organs. However, some data suggest that they can also put critically ill patients at risk for significant complications including increased rates of mortality [3,4], increased multiple organ dysfunction syndrome (MODS) [2,5-7], acute respiratory distress syndrome (ARDS) [8], deep vein thrombosis [9] and nosocomial infections [10-

14]. Storage of RBC units is essential, because it allows the separation in time and space of donation and transfusion and it improves the availability of blood products. Presently, the maximum recommended length of storage, which is based on a 24-hour post-infusion *in vivo* recovery of more than 75% of RBC, is 42 days with the preservative solutions currently used in Canada and the USA [15-18].

Blood banks do not issue blood in a random order: the standard practice is to dispense the oldest blood available in order to reduce potential waste. In recent years, several studies have addressed the issue of RBC unit length of storage and its clinical effects in adults who require transfusions. Whereas some have reported a worse clinical outcome in patients transfused with older blood [6,19-21], others did not find any association between RBC length of storage and increased morbidity or mortality

* Correspondence: marisa.tucci@recherche-ste-justine.qc.ca

¹ Pediatric Critical Care Unit, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, 3175 chemin de la Côte Sainte-Catherine, Montréal H3T 1C5, Canada
 Full list of author information is available at the end of the article



[22-25]. Differences in these conflicting studies, which include baseline severity of illness of patients studied and sample size issues, make comparing these studies difficult. Only one small retrospective study has assessed the effect of RBC length of storage on outcomes in children and no relation was found between RBC unit length of storage and clinical outcome in critically ill children [26].

The primary objective of this observational study was to assess the relation between RBC length of storage and the development of new or progressive MODS in critically ill children, by analyzing data from a large prospective pediatric intensive care unit (PICU) transfusion study [2]. Secondary objectives included the evaluation of the relation between RBC length of storage and adverse outcome as reflected by mortality and PICU length of stay.

We report an independent association between transfusion of RBC units with more prolonged storage time and a higher occurrence rate of new or progressive MODS in critically ill children.

Materials and methods

This study involves patients recruited in a prospective, epidemiological, observational study conducted in 30 PICUs by the Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators (PALISI) Network in the USA and Canada from September 2004 to March 2005 [2]. All children aged less than 18 years who were admitted to a participating PICU and whose length of stay was more than 48 hours were eligible. Institutional review board approval was obtained at all study sites. Written informed consent was obtained for all enrolled subjects.

Some data from the first 48 hours after PICU admission were collected retrospectively, and the rest of the data were collected prospectively up to a maximum of 28 days in the PICU, or until hospital discharge, inter-institutional transfer or death. Any patient readmitted within 48 hours of PICU discharge was attributed only one ICU stay.

Data collected on admission included: demographic data, severity of illness as estimated by the Pediatric Risk of Mortality (PRISM) III score [27], organ dysfunction as estimated by the Pediatric Logistic Organ Dysfunction (PELOD) score [28] and the MODS score [29]. Daily data collection included RBC transfusion events, length of storage of RBC units, MODS variables, clinical information and complications.

The total number of transfusions was recorded for each patient, as well as the volume transfused per transfusion. The total dose of transfusion standardized for body weight was computed by dividing the total volume administered by the patient weight at PICU admission.

RBC concentrates stored for a period shorter than the median length of storage were defined as 'fresh blood', whereas those stored for more than the median length of

storage were defined as 'old blood'. For patients requiring multiple transfusions, 'old blood' or 'fresh blood' attribution was based on the oldest unit received. To compute the median length of storage, the longest length of storage was used for patients receiving multiple transfusions.

The primary outcome measure was the proportion of patients who developed concurrent dysfunction of two or more organ systems (defined as MODS [30]), or had progression of MODS, as evidenced by the worsening of one or more organ dysfunctions, as described by Proulx and colleagues [30]. The secondary outcomes analyzed were PICU length of stay and 28-day mortality. All primary and secondary outcomes were monitored prospectively and were checked for after the first transfusion.

Chi-squared tests and Fisher's exact probability tests were used to undertake unadjusted bivariate tests in order to establish an association between the outcomes and categorical variables. For continuous variables, Student *t* tests were used. Correlations between two continuous variables were analyzed with Pearson's correlation test. Logistic regression was used to compare odds ratios for development of the primary outcome and adjustments were made for variables associated with the primary outcome: gender, age, MODS score at admission, mechanical ventilation at admission, total number of transfusions and total dose of transfusion. We also tested for an interaction between number of transfusions and total dose of transfusions. A Cox regression model, using the same covariables, was used to analyze the adjusted PICU length of stay and the time between the first transfusion and development of the primary outcome. All statistical analyses were performed with SPSS version 16 for Mac (SPSS, Chicago, IL, USA).

Results

Population

A total of 977 consecutively admitted patients were enrolled in 30 sites. One center (47 patients) was excluded from analysis *a posteriori* because that center did not record the RBC unit length of storage. In the remaining 930 patients, 447 (49%) were transfused and received a total of 1991 transfusions: 176 patients (39%) were only transfused once and 271 (61%) had multiple transfusions. Eighty-six percent (86%) of the transfusions were pre-storage leukoreduced.

Data on the length of storage were available for 296 of 447 (66%) transfused patients. The proportion of missing data was not related to the participating center ($P = 0.65$). Of the 296 patients analyzed, 98 (33%) patients received only one transfusion while 198 (67%) received multiple transfusions.

Demographic data

Demographic data for transfused patients for whom length of storage data was documented are shown in

Table 1. The median length of storage was 14.0 days and the mean length of storage was 17.8 ± 11.6 days (Figure 1). Infants less than one month old had a higher probability of receiving RBC units stored for less than 14 days (61% vs. 43%, $P < 0.001$). The median RBC unit length of storage was significantly higher in patients who received more than one transfusion ($R = 0.24$, $P < 0.001$); this correlation did not change significantly with severity of illness (Figure 2). There were no significant differences when comparing the demographic data and severity of illness at admission of patients for whom at least one RBC length of storage was documented ($n = 296$) and those for whom no length of storage was recorded ($n = 151$).

Forty-nine percent of the transfused patients received their first transfusion within the first day after PICU

Table 1: Demographic data in transfused patients with documented RBC length of storage

	Transfused patients (n = 296)
Age (months), mean \pm SD	58.7 \pm 69.2
Gender (male), mean \pm SD	171 (57.7%)
Weight (kg), mean \pm SD	21.0 \pm 23.0
Race	
White, n (%)	215 (72.6%)
Black, n (%)	38 (12.8%)
Asian, n (%)	8 (2.7%)
Other, n (%)	35 (11.8%)
Country	
USA, n (%)	260 (87.8%)
Canada, n (%)	36 (12.2%)
Reason of admission	
Cardiovascular, n (%)	106 (35.8%)
Respiratory, n (%)	81 (27.4%)
Central nervous system, n (%)	43 (14.5%)
Other, n (%)	66 (22.3%)
Sepsis at admission, n (%)	29 (14.8%)
Mechanical ventilation at admission	156 (52.7%)
PRISM III score at admission, mean \pm SD	5.5 \pm 5.7
PELOD score at admission, mean \pm SD	12.0 \pm 9.8
MODS at admission, mean \pm SD	1.5 \pm 1.2

MODS, multiple organ dysfunction score; PELOD, pediatric logistic organ dysfunction; PRISM, pediatric risk of mortality; RBC, red blood cell; SD, standard deviation.

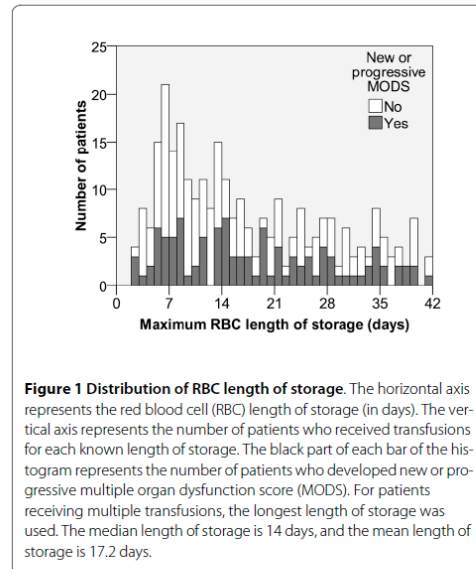


Figure 1 Distribution of RBC length of storage. The horizontal axis represents the red blood cell (RBC) length of storage (in days). The vertical axis represents the number of patients who received transfusions for each known length of storage. The black part of each bar of the histogram represents the number of patients who developed new or progressive multiple organ dysfunction score (MODS). For patients receiving multiple transfusions, the longest length of storage was used. The median length of storage is 14 days, and the mean length of storage is 17.2 days.

admission; an additional 19% were transfused within 48 hours.

Primary outcome

New or progressive MODS was associated with the following confounding variables at admission (Table 2): gender (odds ratio female/male 0.53, 95% confidence interval (CI) = 0.33 to 0.85, $P = 0.01$), severity of illness (MODS score mean difference 0.89, 95% CI = 0.68 to 1.10, $P <$

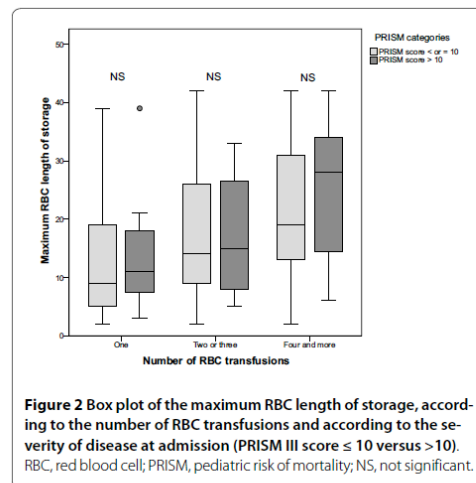


Figure 2 Box plot of the maximum RBC length of storage, according to the number of RBC transfusions and according to the severity of disease at admission (PRISM III score \leq 10 versus $>$ 10). RBC, red blood cell; PRISM, pediatric risk of mortality; NS, not significant.

Table 2: Confounding variables at admission according to occurrence of new or progressive MODS

	Absence of new or progressive MODS (n = 182)	Presence of new or progressive MODS (n = 114)	P value
Age (months), mean \pm SD	59.8 \pm 68.9	57.0 \pm 69.9	0.73
Gender (Male), n (%)	116 (63.7%)	55 (48.2%)	0.01
Weight (kg), mean \pm SD	22.1 \pm 22.9	19.2 \pm 23.2	0.29
PRISM III at admission, mean \pm SD	6.1 \pm 6.3	4.4 \pm 4.4	0.008
MODS at admission, mean \pm SD	1.8 \pm 1.2	1.0 \pm 1.0	<0.001
PELOD at admission, mean \pm SD	13.1 \pm 9.7	10.3 \pm 9.7	0.02
Sepsis at admission, mean \pm SD	22 (12.1%)	7 (6.1%)	0.11
Mechanical ventilation at admission, mean \pm SD	108 (59.3%)	48 (42.1%)	0.004

MODS, multiple organ dysfunction score; PELOD, pediatric logistic organ dysfunction; PRISM, pediatric risk of mortality; SD, standard deviation.

0.001) and mechanical ventilation (odds ratio for being ventilated 0.50, 95% CI = 0.31 to 0.80, $P = 0.004$). In patients who developed new or progressive MODS compared with those who did not, we found that the number of RBC transfusions was significantly higher (5.5 ± 5.7 vs. 2.6 ± 3.6 , $P < 0.001$, respectively), the total volume of RBC transfusions was higher (72 ± 114 vs. 44 ± 79 ml/kg, $P < 0.001$, respectively), and the proportion of patients who received at least one RBC unit stored for 14 days or longer was greater (62.3% vs. 47.3%, $P = 0.01$, respectively).

The unadjusted odds ratio for development of new or progressive MODS in patients receiving at least one RBC unit stored for 14 days or longer was 1.84 (95% CI = 1.14 to 2.97, $P = 0.01$; Table 3). The following organs contributed to the observed MODS: 80 (27%) gastro-intestinal dysfunction, 51 (17%) cardiovascular dysfunction, 30 (10%) respiratory dysfunction, 21 (7%) hematological dysfunction, 19 (6%) renal dysfunction, and 2 (1%) neurological dysfunction. The only organ failure that differed significantly depending on RBC length of storage was renal failure ($P = 0.02$).

After correction for confounding variables (gender, age, MODS at admission, mechanical ventilation at admission, total number of transfusions and total volume of transfusion), the adjusted odds ratio for development of new or progressive MODS in patients receiving older blood (stored ≥ 14 days) was 1.87 (95% CI = 1.04 to 3.27, $P = 0.03$). The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test for this model was 0.49.

In patients who received a single transfusion with a documented length of storage ($n = 98$), the adjusted odds ratio for development of new or progressive MODS was 2.36 (95% CI = 0.88 to 6.34, $P = 0.09$) in those receiving a RBC unit stored for 14 days or longer.

Patients also had an independently greater risk of developing new or progressive MODS, which increased

by a factor of 1.13 (95% CI = 1.03 to 1.24, $P = 0.01$) for each RBC transfusion.

Secondary outcomes

In the univariate analysis, the mean PICU length of stay was significantly longer for patients receiving old blood (stored ≥ 14 days) compared with those receiving fresh blood (9.9 ± 8.3 days vs. 14.0 ± 10.4 days, mean difference 4.1 days, 95% CI = 2.0 to 6.3, $P < 0.001$; Table 3). There was no significant difference for mortality (6.3% vs. 4.3%, $P = 0.6$).

Using the logistic models, there was also a significant difference in the adjusted median length of PICU stay (adjusted median difference +3.7 days, $P < 0.001$; hazard ratio 1.39, 95% CI = 1.07 to 1.80, $P = 0.01$) for patients receiving old blood (Figure 3), but no significant impact on mortality.

We evaluated the time between the first transfusion and the occurrence of new or progressive MODS (Figure 4). Patients who received older blood had a trend toward developing new or progressive MODS faster than those who received fresh blood (hazard ratio = 1.43, 95% CI = 0.96 to 2.15, $P = 0.08$).

Discussion

This observational study evaluates the clinical impact of RBC unit length of storage in critically ill children. We report an independent association between more prolonged RBC unit length of storage and increased morbidity: patients who are transfused with at least one RBC unit stored for 14 days or longer had a significantly higher risk of new or progressive MODS and a longer PICU length of stay.

The relation between RBC unit length of storage and clinical outcome has been extensively debated recently. The results of many large observational studies in adults

Table 3: Demographic, transfusion related and outcome variables according to length of RBC storage

	RBC unit length of storage		P value
	<14 days (n = 139)	≥ 14 days (n = 157)	
Age (months), mean ± SD	37.5 ± 56.8	77.4 ± 73.8	<0.001
Male, n (%)	87 (62.6%)	84 (53.5%)	0.12
Weight (kg), mean ± SD	15.3 ± 18.5	26.0 ± 25.4	<0.001
PRISM III at admission, mean ± SD	4.9 ± 5.7	6.0 ± 5.7	0.09
MODS at admission, mean ± SD	1.3 ± 1.2	1.6 ± 1.3	0.04
PELOD at admission, mean ± SD	10.0 ± 8.3	13.8 ± 10.8	0.001
Sepsis at admission, n (%)	13 (9.4%)	16 (10.2%)	0.85
Mechanical ventilation at admission, n (%)	77 (55.4%)	83 (52.9%)	1.00
Total number of RBC transfusions, mean ± SD	2.6 ± 3.6	5.5 ± 5.7	<0.001
Total dose of RBC transfusions (ml/kg), mean ± SD	44 ± 79	72 ± 114	0.02
New or progressive MODS, n (%)	43 (30.9%)	71 (49.3%)	0.01
Death at 28 days, n (%)	6 (4.3%)	9 (6.3%)	0.61
PICU length of stay (days), mean ± SD	9.9 ± 8.3	14.0 ± 10.4	<0.001

Results are expressed as mean ± standard deviation or numbers and proportions.

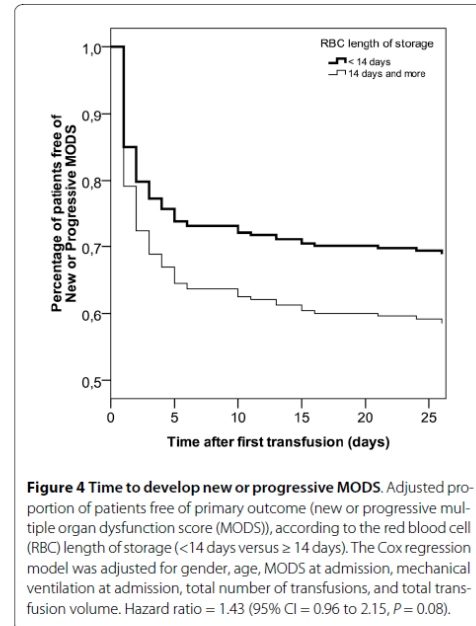
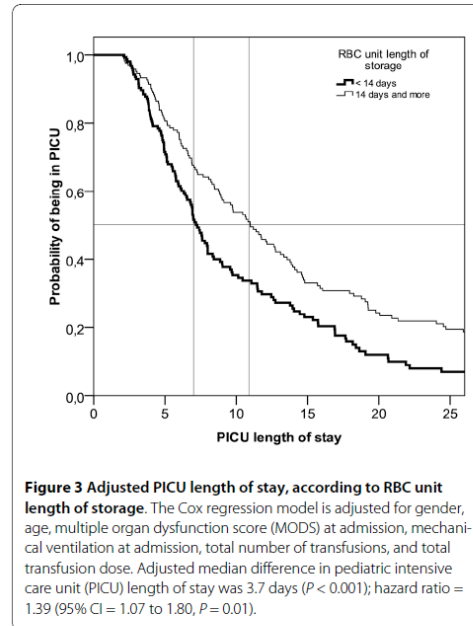
MODS, multiple organ dysfunction score; PELOD, pediatric logistic organ dysfunction; PICU, pediatric intensive care unit; PRISM, pediatric risk of mortality; RBC, red blood cell; SD, standard deviation.

are conflicting. Some authors reported that transfusion of older RBC units (generally a storage time >14 days) is associated with adverse events that include diminished cerebral oxygenation [31], increased rate of nosocomial infections [19], increased deep vein thrombosis [9], increased MODS [6], and increased mortality [3,9,20,21]. Others reported no significant clinical impact with transfusion of older RBC units [22-25,32]. The only pediatric study evaluating the effect of RBC unit length of storage on outcome was a *post-hoc* analysis by Kneyber and colleagues [26]. They reported no differences in length of ventilation, PICU length of stay, or death rate in a small number of transfused patients (n = 67). Our data show that RBC units stored for 14 days or longer are independently associated with a worse clinical outcome, as reflected by the occurrence of new or progressive MODS and by the PICU length of stay.

Several possible mechanisms may explain the adverse clinical effects that are reported with transfusion of older RBC units. Various biochemical changes occur during the storage process, such as a decrease in 2,3-diphosphoglycerate and S-nitrosohemoglobin, which regulates the vasodilatory response to local hypoxemia [33,34]. This could result in an increased mismatch that may compromise oxygen supply to certain tissues. This has been recently observed clinically by Kiraly and colleagues, who reported a decreased tissue oxygenation in patients

receiving older blood transfusions [35]. Older RBCs are less deformable [36], contain more extracellular ubiquitin [37] and advanced glycation end-products [38], express more phosphatidylserine [39], and induce more cytokine production [40] and secretory phospholipase A2 [41]. All these changes in stored RBCs are known to have immunologic or pro-coagulant properties, which could possibly increase the risk of poor outcomes, including multiple organ failure.

Our data also show an independent association between the number of RBC transfusions and the occurrence of new or progressive MODS, every additional transfusion increasing the odds of developing this outcome by 13%. Such a relation has also been described by others [4,42,43]. A higher number of transfusions exposes the patient to more antigens and more inflammatory mediators, which may alter his immune status. In addition, patients with multiple transfusions have a higher mathematical probability of receiving at least one older RBC unit. A relation between severity of illness at baseline and multiple transfusions is also frequently reported. The data reported in the medical literature showed repeatedly a strong association between older RBC units, severity of illness, and/or more RBC transfusions, and worse outcome in critically ill patients, but it is almost impossible to determine if it is the length of storage, the number of transfusions, or the severity of illness that



explained worse outcome. Our study shows that worse clinical outcome is associated with the number of transfusions independently of the longest length of storage; such an independent relation has only been reported recently in adult trauma patients [9,21]. This implies that all studies assessing the association between length of storage and clinical outcome must take into account not only the age of the blood products, but also the total number of transfusions administered and the severity of illness.

There are several limitations in our study. The main limitation is that RBC unit length of storage was not available for one-third of the patients. Although it was not possible to recuperate the missing data, we do not anticipate that the cohort of patients with missing data would bias the results because missing data were not related to the severity of illness at admission. Furthermore, these missing data did not allow us to analyze the data according to other RBC length of storage cutoffs due to sample size issues. However, further support that our findings are valid comes from our analysis of the subgroup of patients who received only one transfusion whose length of storage was available and unequivocal. Although we did not attain sufficient statistical power, there was a trend for a higher adjusted odds ratio for developing new or progressive MODS (2.36, $P = 0.09$, $n = 98$) in those who received blood older than 14 days.

There are other limitations. It has been suggested that leukoreduction is associated with a better clinical outcome [44]. Although it would have been ideal to include this covariable in our logistic regression, the database did not provide sufficient data on leukoreduction to allow for this adjustment. However, because most transfusions (86%) were leukoreduced, there is not sufficient power to analyze this variable. Infants got fresher blood than older children. This might be due to blood bank policies whereby fresher blood may have been provided for cardiac surgery patients, who are likely to be younger. However, our logistic models adjusted for patient age. In patients who received multiple transfusions, analysis was subject to confounding influences due to the mixture of storage times. Although it seems reasonable to adjudicate to the 'older blood' group those who had received at least one transfusion of old blood, one could argue that the groups should be allocated according to the freshest blood administered, or according to the mean or the median length of storage, or perhaps according to a weighted average of the length of storage all RBC units received. The best way to address length of storage issues in patients who received multiple transfusions remains to be determined. Despite the use of maximum RBC age to define old RBCs, which biases our results towards the null hypothesis, our analysis indicated a significant independent association between RBC unit length of storage

and both the occurrence of new or progressive MODS and a more prolonged PICU length of stay. Caution is warranted in the interpretation of these results, which show an association between RBC length of storage and a more adverse clinical outcome in critically ill children. We must underline the fact that our study reported an independent association, not a cause-effect relation between more prolonged length of storage of RBC units and outcome in critically ill patients: only a randomized clinical trial on this question may prove that such cause-effect relation is real.

Conclusions

This observational pediatric study suggests that critically ill children receiving RBC units stored for 14 days or longer are at greater risk of developing new or progressive MODS. Despite the limitations of our study, the observation of an independent association between longer length of storage and a greater risk of new or progressive MODS in critically ill children is a novel and important finding. Definitive conclusions cannot be drawn, but these observational data justify undertaking a randomized controlled trial to evaluate the effect of RBC length of storage in critically ill children.

Key messages

- The clinical impact of the transfusion of RBC units with a more prolonged storage time is a controversial issue. Conflicting results on morbidity and mortality have been published in adults. No large prospective studies have addressed this question in critically ill children.
- In this study, we prospectively evaluate the association between prolonged RBC storage time and clinical outcome in critically ill children.
- In critically ill children, transfusion of RBC units stored for 14 days or longer is independently associated with an increased occurrence of MODS and prolonged PICU stay.
- These novel and important observational data justify undertaking a randomized controlled trial to evaluate the effect of RBC length of storage on the outcome of critically ill children.

Abbreviations

ARDS: acute respiratory distress syndrome; CI: confidence interval; MODS: multiple organ dysfunction syndrome; PALISI: pediatric acute lung injury and sepsis investigators; PELOD: pediatric logistic organ dysfunction; PICU: pediatric intensive care unit; PRISM: pediatric risk of mortality; RBC: red blood cell.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

OK participated in the design of the study and drafted the manuscript. MT and PCS participated in the design of the study and helped to draft the manuscript. TD performed the statistical analysis and helped to draft the manuscript. SB,

AGR and JL conceived of the study and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

We would like to thank the 30 sites of the Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators (PALISI) Network investigators that participated in the data collection. The original study (supported by Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development) aimed to assess a possible indication for erythropoietin in PICU. We would also like to thank Dr Katia Boven, from Johnson and Johnson Pharmaceutical, for her participation in the original study and her helpful comments regarding the present manuscript. This ancillary study was financed by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (#3568 and 3398) and the Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique (#PBGE33-121210).

Author Details

¹Pediatric Critical Care Unit, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, 3175 chemin de la Côte Sainte-Catherine, Montreal H3T 1C5, Canada, ²Department of Pediatrics, University of Massachusetts Medical Center, 55 Lake Avenue, North Worcester, MA 01655, USA, ³Department of Pediatrics, Connecticut Children's Medical Center, 282 Washington St, Hartford, CT 06106, USA, ⁴Department of Surgery, Connecticut Children's Medical Center, 282 Washington St, Hartford, CT 06106, USA and ⁵Division of Critical Care Medicine, Department of Anesthesia, Perioperative and Pain Medicine, Children's Hospital, 300 Longwood Avenue, Boston, Massachusetts 02115, USA

Received: 4 December 2010 Revised: 18 March 2010

Accepted: 8 April 2010 Published: 8 April 2010

References

1. Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, Fink MP, Levy MM, Abraham E, MacIntyre NR, Shabot MM, Duh MS, Shapiro MJ: **The CRIT Study: Anemia and blood transfusion in the critically ill—current clinical practice in the United States.** *Crit Care Med* 2004, **32**:39-52.
2. Bateman S, Lacroix J, Boven K, Forbes P, Barton R, Thomas N, Jacobs B, Markovitz B, Goldstein B, Hanson J, Li H, Randolph A: **Anemia, blood loss, and blood transfusions in North American children in the intensive care unit.** *Am J Resp Crit Care Med* 2008, **178**:26-33.
3. Spinella PC, Perkins JG, Grathwohl KW, Beekley AC, Niles SE, McLaughlin DF, Wade CE, Holcomb JB: **Effect of plasma and red blood cell transfusions on survival in patients with combat related traumatic injuries.** *J Trauma* 2008, **64**:S69-77. discussion 577-68.
4. Kneyber MC, Herst M, Twisk JW, Markhorst D, Plötz F: **Red blood cell transfusion in critically ill children is independently associated with increased mortality.** *Intensive Care Med* 2007, **33**:1414-1422.
5. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Haenel JB, Read RA, Lezotte DC: **Early predictors of postinjury multiple organ failure.** *Arch Surg* 1994, **129**:39-45.
6. Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, Denny C, Silliman CC: **Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure.** *Am J Surg* 1999, **178**:570-572.
7. Alboshi J, Moore EE, Ciesla DJ, Silliman CC: **Blood transfusion and the two-insult model of post-injury multiple organ failure.** *Shock* 2001, **15**:302-306.
8. Gong M, Thompson BT, Williams P, Pothier L, Boyce P, Christiani D: **Clinical predictors of and mortality in acute respiratory distress syndrome: potential role of red cell transfusion*.** *Crit Care Med* 2005, **33**:1191-1198.
9. Spinella PC, Carroll CL, Staff I, Gross R, Mc Quay J, Keibel L, Wade CE, Holcomb JB: **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.
10. Hill GE, Frawley WH, Griffith KE, Forestner JE, Minei JP: **Allogeneic blood transfusion increases the risk of postoperative bacterial infection: a meta-analysis.** *J Trauma* 2003, **54**:908-914.
11. Vamvakas EC, Blajchman MA: **Universal WBC reduction: the case for and against.** *Transfusion* 2001, **41**:691-712.
12. Shorr AF, Jackson WL: **Transfusion practice and nosocomial infection: assessing the evidence.** *Curr Opin Crit Care* 2005, **11**:468-472.
13. Vamvakas EC, Blajchman MA: **Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update.** *Blood Rev* 2007, **21**:327-348.

14. Gunst MA, Minei JP: **Transfusion of blood products and nosocomial infection in surgical patients.** *Curr Opin Crit Care* 2007, **13**:428-432.
15. Simon TL, Marcus CS, Myhre BA, Nelson EJ: **Effects of AS-3 nutrient-additive solution on 42 and 49 days of storage of red cells.** *Transfusion* 1987, **27**:178-182.
16. Zimrin AB, Hess JR: **Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells.** *Vox Sang* 2009, **96**:93-103.
17. Sohmer PR, Moore GL, Beutler E, Peck CC: **In vivo viability of red blood cells stored in CPDA-2.** *Transfusion* 1982, **22**:479-484.
18. Hogman CF, Akerblom O, Hedlund K, Rosen I, Wiklund L: **Red cell suspensions in SAGM medium. Further experience of in vivo survival of red cells, clinical usefulness and plasma-saving effects.** *Vox Sang* 1983, **45**:217-223.
19. Offner PJ, Moore E, Biffi WL, Johnson J, Silliman CC: **Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury.** *Archives of Surg (Chicago, Ill: 1960)* 2002, **137**:711-716. discussion 716-717.
20. Koch CG, Li L, Sessler DJ, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihajlovic T, Blackstone EH: **Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery.** *N Engl J Med* 2008, **358**:1229-1239.
21. Weinberg JA, McGwin G Jr, Griffin RL, Huynh VQ, Cherry SA, Marques MB, Reiff DA, Kerby JD, Rue LW: **Age of transfused blood: an independent predictor of mortality despite universal leukoreduction.** *J Trauma* 2008, **65**:279-282. discussion 282-274.
22. Watering L, Van De, 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**:1712-1718.
23. Leal-Noval SR, Jara-López I, García-Garmendia JL, Marín-Niebla A, Herruzo-Avilés A, Camacho-Laraña P, Loscertales J: **Influence of erythrocyte concentrate storage time on postoperative morbidity in cardiac surgery patients.** *Anesthesiology* 2003, **98**:815-822.
24. Yap C, Lau L, Krishnaswamy M, Gaskell M, Yil M: **Age of transfused red cells and early outcomes after cardiac surgery.** *Ann Thorac Surg* 2008, **86**:554-559.
25. Dessertaine G, Hammer L, Chenais F, Rémy J, Schwebel C, Tabah A, Ara-Somohano C, Bonadona A, Hamidfar-Roy R, Barnoud D, Timsit JF: **Does red blood cell storage time still influence ICU survival?** *Transfusion clinique et biologique: Journal de la Société française de transfusion sanguine* 2008, **15**:154-159.
26. 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**:179-180.
27. Pollack MM, Patel KM, Ruttmann UE: **PRISM III: an updated Pediatric Risk of Mortality score.** *Crit Care Med* 1996, **24**:743-752.
28. Leteurre S, Martinot A, Duhamel A, Proulx F, Grandbastien B, Cotting J, Gottesman R, Joffe A, Pfenninger J, Hubert P, Lacroix J, Leclerc F: **Validation of the paediatric logistic organ dysfunction (PELOD) score: prospective, observational, multicentre study.** *Lancet* 2003, **362**:192-197.
29. Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ: **Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome.** *Crit Care Med* 1995, **23**:1638-1652.
30. Proulx F, Fayon M, Farrell CA, Lacroix J, Gauthier M: **Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children.** *Chest* 1996, **109**:1033-1037.
31. Leal-Noval SR, Muñoz-Gómez M, Arellano-Orden V, Marín-Caballeros A, Amaya-Villar R, Marín A, Puppo-Moreno A, Ferrández-Millón C, Flores-Cordero JM, Murillo-Cabezas F: **Impact of age of transfused blood on cerebral oxygenation in male patients with severe traumatic brain injury.** *Crit Care Med* 2008, **36**:1290-1296.
32. Weiskopf R, Feiner J, Hopf H, Lieberman J, Finlay HE, Quah C, Kramer JH, Bostrom A, Toy P: **Fresh blood and aged stored blood are equally efficacious in immediately reversing anemia-induced brain oxygenation deficits in humans.** *Anesthesiology* 2006, **104**:911-920.
33. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, Mulherin MA, Zhu H, Buck RD, Califf RM, McMahon TJ: **Evolution of adverse changes in stored RBCs.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104**:17063-17068.
34. 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 USA* 2007, **104**:17058-17062.
35. Kiraly LN, Underwood S, Differding JA, Schreiber MA: **Transfusion of aged packed red blood cells results in decreased tissue oxygenation in critically injured trauma patients.** *J Trauma* 2009, **67**:29-32.
36. Releivy H, Koshkaryev A, Manny N, Yedgar S, Barshtein G: **Blood banking-induced alteration of red blood cell flow properties.** *Transfusion* 2008, **48**:136-146.
37. Patel MB, Proctor KG, Majetschak M: **Extracellular ubiquitin increases in packed red blood cell units during storage.** *J Surg Res* 2006, **135**:226-232.
38. Lysenko L, Mierzchała M, Gamian A, Durek G, Kübler A, Kozłowski R, Sliwiński M: **The effect of packed red blood cell storage on arachidonic acid and advanced glycation end-product formation.** *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2006, **54**:357-362.
39. Sweeney J, Koultab N, Kurtis J: **Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation.** *Transfusion* 2009 in press.
40. Karam O, Tucci M, Toledano BJ, Robitaille N, Cousineau J, Thibault L, Lacroix J, Le Deist F: **Length of storage and in vitro immunomodulation induced by prestorage leukoreduced red blood cells.** *Transfusion* 2009, **49**:2326-2334.
41. Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffi WL, Silliman CC: **Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA2.** *Shock* 2000, **13**:29-33.
42. Oliver E, Carrio ML, Rodríguez-Castro D, Javierre C, Ferrero E, Torrado H, Castells E, Ventura JL: **Relationships among haemoglobin level, packed red cell transfusion and clinical outcomes in patients after cardiac surgery.** *Intensive Care Med* 2009, **35**:1548-1555.
43. Taylor R, O'Brien J, Trottier S, Manganaro L, Cytron M, Lesko M, Arnzen K, Cappadoro C, Fu M, Plisco M, Sadaka F, Veremakis C: **Red blood cell transfusions and nosocomial infections in critically ill patients.** *Crit Care Med* 2006, **34**:2302-2308. quiz 2309.
44. Bilgin YM, Watering LM van de, Eijlsman L, Versteegh M, Brand R, van Oers MH, Brand A: **Double-blind, randomized controlled trial on the effect of leukocyte-depleted erythrocyte transfusions in cardiac valve surgery.** *Circulation* 2004, **109**:2755-2760.

doi: 10.1186/cc8953

Cite this article as: Karam *et al.*: Association between length of storage of red blood cell units and outcome of critically ill children: a prospective observational study *Critical Care* 2010, **14**:R57**Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:**

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

Chapitre 4. Synthèse

4.1 Evaluation de la validité interne de l'étude

Cette étude épidémiologique a mis en lumière une association statistiquement indépendante entre la durée d'entreposage des transfusions de CE et une augmentation de la morbidité des enfants hospitalisés dans une unité de soins intensifs. L'interprétation de ces résultats doit se faire en tenant compte de la validité interne et externe de l'étude.

L'analyse de la validité interne de l'étude se fonde sur l'interprétation des tests statistiques, afin de déterminer la probabilité que les conclusions de l'étude soient vraies. Il faut dès lors commencer par évaluer la définition de la variable indépendante et l'analyse statistique des données.

4.1.1 Evaluation de la variable indépendante

L'évaluation de la validité interne de l'étude repose sur l'adéquation de la comparaison entre les deux groupes, qui ne peut se faire que si les groupes sont bien définis. La variable qui différencie les deux groupes (variable indépendante) est la durée d'entreposage des CE. Cette donnée est facilement obtenue, soit directement en lisant l'étiquette sur le culot érythrocytaire, soit en se renseignant auprès de la banque du sang.

Comme il s'agit d'une variable continue, elle a été catégorisée en variable dichotomique, en prenant une durée de 14 jours comme valeur seuil, durée qui correspondait à la médiane observée dans l'échantillon recueilli. Cette catégorisation entre *sang vieux* et *sang jeune* est fréquente dans la littérature traitant de la durée d'entreposage. Les seuils généralement utilisés sont deux^{5, 42, 56-58} ou trois semaines^{42, 44}. Ainsi, le seuil choisi est cohérent avec le reste de la littérature.

Alors qu'il est simple d'attribuer un patient mono-transfusé à un groupe (sang « *sang jeune* » ou « *sang vieux* »), la décision est plus difficile pour les patients ayant reçu plus d'une transfusion. En général, la plupart des chercheurs ont utilisé la durée d'entreposage la plus longue pour attribuer un patient à au groupe *sang vieux*^{42, 56-59}. Dans notre étude aussi, les patients ayant reçu au moins un culot entreposé pendant 14 jours ou plus étaient attribués au groupe *sang vieux*. Ainsi, l'attribution des patients aux groupes est aussi cohérente avec le reste de la littérature. Ceci renforce donc la validité interne de l'étude.

4.1.2 Evaluation de l'analyse statistique

Afin d'estimer la validé interne d'une étude, il faut aussi en évaluer l'analyse statistique.

Comme l'hypothèse était que « *la transfusion de culots érythrocytaires avec une durée d'entreposage prolongée est associée à une augmentation de la morbidité* », l'analyse statistique devait déterminer si la différence de morbidité entre les deux groupes (*sang jeune* et *sang vieux*) est significativement différente, c'est-à-dire qu'elle n'est pas due juste au hasard de l'échantillonnage.

Comme les deux groupes ne sont pas similaires à l'analyse univariée, le groupe *sang vieux* étant plus âgé, plus sévèrement malade à l'admission, et ayant reçu un plus grand nombre de transfusions, il faut que l'analyse permette de corriger pour ces co-variables. Dès lors, le meilleur choix est celui d'une régression logistique multiple, qui permet d'isoler statistiquement l'effet de la durée d'entreposage.

Le paramétrage de la régression logistique est aussi crucial, et il convient de choisir avec rigueur les co-variables. Dans cette étude, il a été décidé d'incorporer tous les paramètres pour lesquels l'analyse univariée montrait une différence statistiquement significative par rapport au critère de jugement primaire (*new or progressive MODS*), ainsi que l'âge, une covariable qu'il est habituel d'insérer dans ce genre de régression.

Néanmoins, il a fallu s'assurer au préalable de l'absence de colinéarité entre les variables. Or, comme le poids et l'âge étaient fortement colinéaires ($R^2 = 0.97$, $p < 0.001$), il a été convenu de n'inclure que l'âge. Similairement, il a fallu choisir une seule parmi les trois variables mesurant la sévérité de la maladie à l'admission (PRISM, SDMV et PELOD). Dans un modèle de régression, il faut que variables indépendantes continues soient linéairement associées à la variable dépendante. Or, comme tant le PELOD que le PRISM ont une relation non linéaire avec le SDMV nouveau ou progressif (*new or progressive MODS*), il aurait fallu les catégoriser. Il a donc été décidé d'utiliser le SDMV à l'admission pour quantifier la sévérité de la maladie dans le modèle de régression.

Par contre, il a été décidé de conserver deux variables qui auraient pu sembler colinéaires, mais qui en réalité ne l'étaient pas: le nombre de transfusions et la dose totale de transfusions (en ml/kg). En effet, le coefficient de Pearson n'est que de 0.70 ($p < 0.001$), ce qui n'est pas assez pour conclure à une colinéarité suffisante. L'explication de cette faible colinéarité tient probablement au fait que certains patients furent transfusés une seule fois avec une dose importante (jusqu'à plus de 20 ml/kg par transfusion), alors que d'autres ont reçu parfois plus de 20 transfusions de très petites doses (allant de 1 à 3 ml/kg). Dès lors, en raison de la variabilité de la dose de transfusion, la dose totale de transfusion n'est pas colinéaire avec le nombre de transfusions.

Afin de s'assurer que le modèle est valide, il est possible de calculer le test de Hosmer-Lemeshow, qui mesure la qualité de la modélisation. Le modèle décrit ci-dessus a un « score » de 0.49, ce qui est adéquat. En effet, un score trop élevé (proche de 1.0) indiquerait que le modèle de régression est tellement calibré pour l'échantillon analysé qu'il est possible qu'il ne soit pas adéquat dans un autre échantillon.

Nous rapportons une augmentation statistiquement significative tant de la morbidité que de la durée d'hospitalisation aux soins intensifs. L'analyse statistique, qui permet d'évaluer la probabilité que ces résultats ne soient dus qu'au hasard, indique qu'il y a moins de 3% de probabilité que la durée d'entreposage ne soit pas associée avec une augmentation

de la morbidité, et que les risques que la durée d'entreposage ne soit pas associée à la durée d'hospitalisation aux soins intensifs sont inférieurs à 0.1%.

Ainsi, les résultats que nous présentons ont une bonne validité interne, étant donné que les analyses statistiques indiquent que ces résultats n'ont que très peu de chance d'être dus au hasard.

4.1.3 Biais liés à la validité interne

Certains biais, qui peuvent se définir comme une erreur qui se reproduit systématiquement, peuvent diminuer la validité interne d'une étude, en rendant le résultat erroné. Parmi ceux-ci, le biais de sélection est une distorsion des résultats induite par un défaut de l'étude au niveau de la sélection ou de la participation des sujets. Comme notre étude est observationnelle et que le taux d'inclusion fut élevé (89.9%), un biais de sélection relié au recrutement des patients semble peu probable. Par contre, comme les patients les plus malades reçoivent plus de transfusions, et que le nombre de transfusions augmente la probabilité de recevoir au moins un culot entreposé 14 jours ou plus, il y a un biais de confusion de l'indication⁶⁰. En effet, un tel biais apparaît quand on étudie l'évolution clinique après un traitement, quand c'est l'indication au traitement qui détermine aussi l'évolution clinique. Néanmoins, ce biais est partiellement pris en compte dans l'analyse statistique, étant donné que le modèle est ajusté pour la sévérité de la maladie, ce qui permet de diminuer son effet sur les résultats. Une autre source potentielle de biais est une mortalité asymétrique entre les deux groupes, qui conduirait à un biais sur la durée d'hospitalisation (biais de mortalité). Néanmoins, le taux de mortalité global étant très bas et la mortalité n'étant pas différente entre les deux groupes, on peut estimer que ce biais n'est pas très important dans notre étude.

Un biais de d'allocation au groupe *sang vieux* ou au groupe *sang jeune* des patients ayant reçu des transfusions multiples a pu survenir. En effet, un patient ayant reçu un culot entreposé 10 jours et un autre entreposé 20 jours est attribué, selon le protocole, au groupe *sang vieux*. Dans une situation extrême, on pourrait même imaginer un patient attribué au

groupe *sang vieux* alors qu'il aurait reçu 15 culots entreposés pendant 5 jours et un seul culot entreposé 15 jours. Afin d'évaluer si l'effet de ce biais surestime ou sous-estime la relation entre la durée d'entreposage et le critère de jugement primaire, il convient de remplir un tableau 2x2. Pour ce faire, il faut reprendre les données originales, et ajouter une estimation des valeurs réelles (tableau 1). Dans cette situation, comme ce biais d'allocation tend à augmenter le nombre de patients qui sont attribués au groupe *sang vieux*, on peut estimer que le nombre réel de patients dans le groupe *sang jeune* est augmenté de 20%.

A	<i>SDMV nouveau ou progressif</i> <i>New or progressive MODS</i>		Total
	Présence	Absence	
<i>Sang jeune (< 14 jours)</i>	96	43	139
<i>Sang vieux (≥ 14 jours)</i>	86	71	157
Total	182	114	RR = 1.84

B	<i>SDMV nouveau ou progressif</i> <i>New or progressive MODS</i>		Total
	Présence	Absence	
<i>Sang jeune (< 14 jours)</i>	↑ 115 (+20%)	↑ 52 (+20%)	↑ 167 (+20%)
<i>Sang vieux (≥ 14 jours)</i>	↓ 67 (-20%)	↓ 62 (-20%)	↓ 127(-20%)
Total	182 (idem)	114 (idem)	RR = ↑ 2.04

Tableau 1. Estimation du biais d'allocation : Valeurs mesurées (A) et valeurs estimées (B) en fonction de l'attribution aux groupes *sang vieux* et *sang jeune*. La situation B correspond à une estimation que 20% des patients dans le groupe *sang vieux* devraient être dans le groupe *sang jeune*. Le risque relatif passerait dès lors de 1.84 à 2.04.

Comme on le voit dans le tableau 1, en augmentant le nombre de patients attribués au groupe *sang jeune*, le risque relatif augmente. Ceci s'explique par le fait qu'il s'agisse d'une erreur de classement qui varie entre les deux groupes. On parle dans ces cas d'une erreur différentielle. Dès lors, on peut conclure que ce biais d'allocation conduit à sous-estimer l'association entre la durée d'entreposage des CE et le critère de jugement primaire.

Une autre façon d'estimer ce biais est d'analyser le sous-groupe de patients n'ayant eu qu'une seule transfusion, pour lequel ce biais ne s'applique donc pas. Pour ces 98 patients, le rapport de cotes (l'odds ratio) ajusté de développer le critère de jugement primaire est de 2.36 (95% CI = 0.88 à 6.34, $p = 0.09$). Même si ce résultat n'est pas statistiquement significatif, il permet de vérifier que le biais en question conduit bien à sous-estimer la relation réelle entre la durée d'entreposage et le SDMV nouveau ou progressif (*new or progressive MODS*), étant donné que ce résultat va dans le même sens que les résultats de l'analyse de tous les patients.

Il pourrait aussi y avoir un biais de détection du critère de jugement (certains parlent d'un biais d'évaluation) qui se produit quand la mesure du critère de jugement n'est pas réalisée de façon similaire dans les deux groupes. Dans cette étude, l'évaluation du critère de jugement primaire était quotidienne, dès la première transfusion, et l'attribution du critère de SDMV nouveau ou progressif (*new or progressive MODS*) ne s'est faite que lors de l'analyse. Dès lors, il est peu probable que les évaluateurs aient eu tendance à détecter différemment le critère de jugement pour un groupe par rapport à l'autre. Cependant, les évaluateurs qui ont diagnostiqué les cas de SDMV nouveau ou progressif n'avaient pas reçu d'information leur signifiant que nous cherchions une relation entre la durée d'entreposage et le sort des patients, ce qui diminue le risque qu'ils aient été tentés de diagnostiquer plus souvent les cas de SDMV dans un groupe plutôt que dans l'autre.

L'effet d'un manque d'information sur la manœuvre doit aussi être envisagé. En effet, la durée d'entreposage n'était connue que pour 66% des patients de notre cohorte. Afin d'évaluer l'impact de ce biais, il convient d'évaluer s'il affecte les deux groupes de

façon identique. Or, l'analyse ne retrouve aucune différence entre les patients pour lesquels la durée d'entreposage était documentée par rapport à ceux sans durée d'entreposage. Dès lors, on peut répéter l'exercice d'estimation, en ramenant mathématiquement chaque case du tableau 2x2 à la population totale des patients transfusés, étant donné que le biais devrait être distribué de façon homogène parmi l'échantillon.

A	SDMV nouveau ou progressif <i>New or progressive MODS</i>		Total
	Présence	Absence	
<i>Sang jeune (< 14 jours)</i>	96	43	139
<i>Sang vieux (≥ 14 jours)</i>	86	71	157
Total	182	114	RR = 1.84

B	SDMV nouveau ou progressif <i>New or progressive MODS</i>		Total
	Présence	Absence	
<i>Sang jeune (< 14 jours)</i>	↑ 145 (+51%)	↑ 65 (+51%)	↑ 210 (+51%)
<i>Sang vieux (≥ 14 jours)</i>	↑ 130 (+51%)	↑ 107 (+51%)	↑ 237(+51%)
Total	↑ 275 (+51%)	↑ 172 (+51%)	RR = 1.84

Tableau 2. Estimation de l'effet d'un manque d'information sur la manœuvre: Valeurs mesurées (A) et valeurs estimées (B) en fonction de l'attribution aux groupes *sang vieux* et *sang jeune*. La situation B correspond à une estimation que tous les patients transfusés (447 au lieu de 296 = augmentation de 51%) auraient eu un enregistrement de la durée d'entreposage. Le risque relatif serait identique.

On s'aperçoit que l'augmentation de la taille de l'échantillon utilisable pour l'analyse ne change pas la mesure de l'association, puisque le biais est distribué de façon homogène (erreur non-différentielle).

En conséquence, il existe plusieurs biais liés à la validité interne de cette étude (biais de sélection, biais de confusion de l'indication, biais de mortalité, biais d'allocation, biais d'évaluation, et manque d'information) mais ceux-ci ne devraient conduire globalement qu'à une sous-estimation de la relation entre la durée d'entreposage des CE et le critère de jugement primaire.

4.2 Evaluation de la validité externe de l'étude

L'analyse de la validité externe est basée sur la possibilité de généraliser ces résultats à la population, et non seulement à l'échantillon étudié. En effet, aucune étude ne peut inclure tous les patients d'une population; il faut donc se contenter d'un échantillon, en espérant que les conclusions issues de l'analyse de cet échantillon puissent être généralisées à toute la population. Comme il n'existe aucun test pour déterminer si les conclusions d'une étude peuvent être généralisées, il convient d'évaluer la représentativité de l'échantillon, la validité des critères de jugement, et les biais associés à la validité externe de l'étude.

4.2.1 Patients

Afin de s'assurer de la représentativité de l'échantillon que nous avons étudié, il convient d'analyser les critères d'inclusion et d'exclusion et les données démographiques des patients.

Sur 5570 patients admis aux soins intensifs pendant l'étude dans les 30 centres participants, 1097 patients étaient éligibles parce que leur durée de séjour dépassait 48 heures. Parmi ceux-ci, 977 ont été inclus (89.9%), dont 447 ont été transfusés.

Comme le critère d'éligibilité de 48 heures de durée de séjour minimale exclut *de facto* les patients qui restent moins que deux jours, et qui sont donc vraisemblablement moins malades, il convient de s'assurer que la population étudiée est comparable à une

population habituelle de soins intensifs. Le score de PRISM est un outil fréquemment utilisé pour mesurer le risque de mortalité et donc la sévérité de la maladie chez les patients en soins intensifs pédiatriques⁵². Dans notre étude, le score de PRISM moyen des patients transfusés est de 5.5 ± 5.7 . Peu d'études rapportent le PRISM de tous les patients de soins intensifs, la plupart se concentrant sur une sous-population particulière (insuffisance respiratoire, traumatismes, insuffisance rénale). Néanmoins, certaines études nous permettent une comparaison de la sévérité globale dans des unités de soins intensifs. Ainsi, les données publiées par Armano *et al* montrent un score PRISM moyen de 5.7 ± 6.3 , observé chez 985 patients consécutifs admis aux soins intensifs pédiatriques sur une durée d'un an². Une autre étude observationnelle sur 1052 patients de soins intensifs pédiatriques trouve un PRISM moyen de 3.4 ± 6.0 ⁶¹. Dès lors, il semble que la population de notre étude soit similaire à une population normale de soins intensifs, malgré le critère d'éligibilité d'admission de plus de 48 heures. Ceci permet de généraliser les résultats de cette étude aux patients habituels, admis aux soins intensifs, et non seulement à une sous-population de patients très malades. Ceci renforce donc la validité externe de l'étude.

4.2.2 Les critères de jugements et leurs estimations

Comme dans toute étude scientifique, il est essentiel que les mesures effectuées reflètent la réalité. Dans les études cliniques faites chez des patients traités en soins intensifs, il est souvent proposé de mesurer la morbidité ou la mortalité. Alors qu'il est assez simple de mesurer la mortalité, la mesure de la morbidité est plus controversée. Certains auteurs décident donc de se concentrer sur une complication en particulier, que ce soit les infections nosocomiales ou l'insuffisance rénale, dont les définitions claires sont disponibles (même si elles aussi sont parfois sujettes à controverse^{62, 63}). En particulier, les auteurs qui travaillent sur la durée d'entreposage des CE ont souvent choisi les infections nosocomiales⁶⁴⁻⁶⁷, la durée d'hospitalisation⁵⁹, ou encore la mortalité^{47, 68}. Certains se sont aussi concentrés sur la perfusion d'organes, mesurée par tonométrie gastrique ou par la SvO₂ systémique^{5, 7, 69}. Ces études utilisent donc soit des critères de jugement non-

spécifiques (apport global en oxygène, durée d'hospitalisation, mortalité), soit des critères de jugement très spécifiques (microperfusion gastrique, insuffisance rénale, infections, etc.).

4.2.2.1 Critère de jugement primaire

Comme le choix du critère de jugement primaire (primary outcome) est un élément crucial pour toute étude, il convient de s'assurer qu'il mesure adéquatement l'objet sur lequel porte la recherche. Dans le cas de cette étude, dont l'hypothèse est « *Dans une population de patients de soins intensifs pédiatriques sévèrement malades, la transfusion de culots érythrocytaires avec une durée d'entreposage prolongée est associée à une augmentation de la morbidité.* » nous avons voulu utiliser un critère de jugement primaire qui reflète la morbidité au sens large.

Alors que les études chez des adultes recourent souvent à la mortalité comme critère de jugement primaire, ce choix n'aurait pas été judicieux en pédiatrie. En effet, aux soins intensifs pédiatriques, la mortalité est beaucoup plus faible qu'en milieu adulte, de l'ordre de 5 à 10%⁷⁰; de plus une proportion non-négligeable de patients y décèdent suite à des décisions de soins de fin de vie⁷¹. Choisir la mortalité comme critère de jugement principal de notre étude aurait impliqué une augmentation si considérable de la taille de l'échantillon que la faisabilité de l'étude aurait été mise en danger. C'est pourquoi la mortalité ne semblait pas être un critère de jugement primaire idéal dans cette étude faite en soins intensifs pédiatriques.

Aux soins intensifs, la morbidité est souvent définie en terme d'insuffisance d'organes. Dès lors, le critère de jugement primaire se doit de refléter les insuffisances d'organes. Des scores ont été créés afin de mesurer à quel point les différents systèmes sont éloignés de leur état physiologique de base. Alors que plusieurs scores (PIM, PRISM) sont modélisés pour prédire la probabilité de décès en fonction des paramètres à l'admission^{52, 72}, ces scores ne servent pas à prédire une mortalité individuelle, mais plutôt celle d'un

groupe. De plus, les scores PIM et PRISM ont été conçus pour évaluer la gravité des cas à l'admission aux soins intensifs, mais pas par la suite; ils peuvent donc servir en tant que covariable, mais pas comme critère de jugement. D'autres scores ont été développés pour mesurer les fonctions d'organes au cours de l'hospitalisation, notamment le score PELOD⁷³. Tout comme les scores PIM et PRISM, le PELOD est aussi un score composite, qui permet d'attribuer et de moduler la sévérité d'atteinte de chaque système, en accordant un pointage plus élevé si le degré d'anomalie de chaque paramètre qui le compose est plus marqué (pointages possibles : 0, 1, 10 ou 20); ainsi, le PELOD maximal est de 71. Ce score permet d'avoir une évaluation discriminante de la dysfonction des systèmes, et est aussi corrélé avec la mortalité. Néanmoins, même si la signification clinique d'une détérioration du score PELOD est intuitive, il est difficile de saisir l'importance d'une augmentation d'un point.

Adapté de Wilkinson *et al*⁷⁴, le score SDMV (*MODS score*) a été défini en 1996 par Proulx *et al*, pour décrire l'épidémiologie des insuffisances d'organes et des états septiques pédiatriques⁵³. Sept systèmes sont évalués (respiratoire, cardiovasculaire, digestif, hépatique, rénal, hématologique, et neurologique), chacun ayant des critères dichotomiques pour définir l'insuffisance du système (voir Annexe 1). Bien que les critères utilisés n'aient jamais fait l'objet de validation scientifique, ils sont largement utilisés en clinique et en recherche. Le concept sous-jacent au SDMV est la relation entre le nombre de défaillances de systèmes et la sévérité globale de la maladie du patient⁷³. Par définition, un SDMV signifie que le patient a au moins deux systèmes défaillants.

Dans cette étude, le critère de jugement primaire est l'apparition ou la détérioration d'un SDMV (*new or progressive MODS*). Ainsi, un patient qui n'a aucune ou une seule insuffisance d'organe au moment de sa première transfusion et qui développe par la suite l'insuffisance d'au moins deux organes, se voit attribuer le critère de jugement primaire. Un patient qui a déjà un SDMV (soit au moins deux systèmes insuffisants) et qui développe une défaillance d'organe supplémentaire, se voit aussi attribuer le critère. Ce critère de jugement primaire est donc dichotomique, et désigne les patients dont l'état s'est aggravé

après la transfusion. Il est entendu que les patients décédés présentent une défaillance de tous les organes.

Comme l'apparition ou la progression d'un SDMV correspond réellement à une aggravation clinique, et donc à la définition de morbidité aux soins intensifs, ce critère de jugement primaire a été considéré adéquat par les Instituts de Recherche en Santé du Canada lorsqu'ils ont accordé une subvention pour le financement de l'étude TRIPICU⁵⁴. Le National Institutes of Health (NIH) des Etats-Unis d'Amérique ont accordé le même crédit au concept de SDMV nouveau ou progressif en finançant l'étude RECESS⁷⁵. La surveillance des cas de SDMV nouveau ou progressif devrait donc permettre d'évaluer l'hypothèse de l'étude.

4.2.2.2 Critères de jugements secondaires

Tout comme le critère de jugement primaire, les critères de jugements secondaires se doivent de mesurer la morbidité, afin de pouvoir vérifier l'hypothèse de l'étude. Trois critères de jugements secondaires ont été choisis : la durée de séjour aux soins intensifs, la mortalité à 28 jours et le temps entre la première transfusion et l'apparition du critère de jugement primaire.

La durée de séjour aux soins intensifs est un critère de jugement souvent utilisé dans la littérature médicale. Cette variable est généralement utilisée pour mesurer la morbidité, puisqu'il semble vraisemblable que plus un patient est malade, plus sa durée d'hospitalisation va être longue. Néanmoins, cette mesure souffre de quelques faiblesses. Il est possible qu'un patient reste un jour ou deux de plus aux soins intensifs, simplement parce qu'il manque de lits dans l'unité d'hospitalisation de soins réguliers. La durée précise de l'hospitalisation aux soins intensifs est aussi difficile à déterminer, parce qu'elle est mesurée en jours, et non en heures. Ceci conduit à des arrondis, puisqu'une hospitalisation de 25 heures ou de 46 heures est équivalente en terme de jours d'hospitalisation; cependant, il faut souligner qu'une telle approche dite actuarielle est utilisée fréquemment en recherche

clinique. Enfin, la mortalité a une incidence sur la durée d'hospitalisation, puisque les patients qui décèdent ont une durée d'hospitalisation plus courte que ceux qui sont très malades mais survivent. Ceci peut conduire à un paradoxe, où la mortalité augmente mais la durée d'hospitalisation diminue. Dès lors, pour pouvoir interpréter la durée d'hospitalisation, il convient de s'assurer que le taux de mortalité ne soit pas très important ou trop déséquilibré entre les deux groupes étudiés, ce qui a été le cas dans notre population.

La mortalité à 28 jours est une mesure habituelle de la morbidité. En effet, plus un patient est malade, plus il a de chances de décéder. L'avantage principal de cette mesure est son objectivité. En effet, le décès d'un patient est enregistré de façon simple et sans ambiguïté. La durée pendant laquelle le décès compte comme une complication de la maladie est assez arbitraire, étant donné qu'il ne faut pas que le patient décède d'une autre pathologie ou d'une complication d'un épisode ultérieur, mais il faut aussi que tous les décès de l'épisode actuel soient pris en compte. La décision de mesurer la mortalité à 28 jours est celle en général retenue dans le milieu pédiatrique. Même si le taux de mortalité aux soins intensifs pédiatriques est plus faible qu'en milieu adulte⁷⁰, et qu'il est donc moins probable que le traitement évalué ait une influence sur la mortalité, celle-ci demeure un critère de jugement très important.

La durée entre la première transfusion et la survenue du critère de jugement primaire (apparition ou progression d'un SDMV) permet aussi d'évaluer la morbidité induite par des transfusions de sang entreposées plus de 14 jours. Elle permet de mesurer l'association entre la durée d'entreposage et une des manifestations de la sévérité de la maladie, selon le postulat que le temps nécessaire à une détérioration clinique est lié à la sévérité de la détérioration. Ce critère est souvent utilisé en épidémiologie, principalement dans des relations doses-réponses, sur le modèle « time-to-event ». Sa faiblesse principale est la difficulté de déterminer avec précision le début de la détérioration^{76, 77}. Là encore, il y a un arrondi sur la mesure de l'intervalle de temps entre la première transfusion et le diagnostic du SDMV. Par contre, une analyse de survie comporte un avantage majeur : elle

est plus sensible qu'une analyse basée sur un critère de jugement dichotomique évalué une seule fois (le patient est mort ou pas pendant l'étude), ce qui augmente les chances de détecter une différence.

Ainsi, les trois critères de jugements secondaires mesurent tous la morbidité de patients de soins intensifs, et permettent ainsi de vérifier l'hypothèse de l'étude. Ces critères de jugements renforcent donc la validité externe de l'étude.

4.2.3 Biais liés à la validité externe

Un biais lié à la validité externe affecte, par définition, la qualité de généralisation de l'étude, principalement par la validité de son modèle théorique. En effet, la généralisation n'est pas possible s'il existe une autre explication quant à la relation entre la variable indépendante (transfusion de CE entreposé depuis plus ou moins longtemps dans notre étude) et les variables dépendantes. Le modèle théorique qui permet d'expliquer les résultats observés est robuste, basé sur de nombreux articles de médecine fondamentale, expliquant les mécanismes au niveau cellulaire (cf. point 1.5). Par ailleurs, il existe plusieurs études cliniques faites chez l'adulte retrouvant des résultats similaires (cf. point 1.7).

D'autres biais doivent aussi être évalués. Dans cette étude, il n'y a pas d'intervention compensatoire (biais occasionné quand les soignants ou les chercheurs essaient de compenser l'intervention dans un groupe par une attention plus grande dans l'autre groupe) puisque les cliniciens n'étaient pas au courant des critères de jugement mesurés. Il n'y a pas non plus de biais lié à l'attente de l'expérimentateur, étant donné que les analyses ont été prévues *a priori*, et que toutes les données ont été présentées.

Ainsi, la validité externe est exempte de biais, ce qui renforce la généralisabilité des résultats.

4.2.4 Interprétation des résultats

L'étude décrit une association entre la durée d'entreposage des CE et une augmentation de la morbidité, pour des patients admis plus de 48 heures dans un service de soins intensifs pédiatriques. Parmi ces patients, une transfusion d'un seul culot entreposé plus de 14 jours augmente significativement le risque de détérioration clinique (apparition ou progression d'un SDM), et rallonge significativement la durée d'admission.

Ces résultats proviennent d'une étude observationnelle; ils ne permettent donc pas de conclure à une causalité, mais uniquement à une association. De plus, l'indépendance de cette association est obtenue mathématiquement, étant donné que les conclusions sont le résultat d'une régression logistique. Seule une étude randomisée permettrait d'isoler réellement l'effet de la durée d'entreposage des autres co-variables. La principale autre faiblesse de l'étude est la quantité importante de données manquantes, ne permettant d'analyser que 66% des patients inclus. Néanmoins, comme les données démographiques (âge, sévérité de la maladie, etc.) sont similaires entre les patients avec ou sans enregistrement de la durée d'entreposage, ceci ne devrait pas avoir trop d'influence sur la magnitude de l'association.

Ainsi, les résultats de cette étude ont une bonne validité interne et externe, mais doivent être interprétés avec précaution, au vu de ses quelques faiblesses. Néanmoins, il s'agit de la première étude pédiatrique publiée sur ce sujet.

4.2 Comparaisons avec d'autres études

Afin de mettre en perspective cet article, il est intéressant de le comparer à d'autres études publiées sur le même sujet. Les trois premières études suivantes sont parmi les plus citées sur ce sujet, alors que la quatrième étude est la seule autre étude pédiatrique.

4.2.1 Étude de Leal-Noval *et al* en 2003

En 2003, une équipe espagnole a publié une des premières grandes études sur les effets cliniques de la durée d'entreposage, chez des patients adultes de chirurgie cardiaque⁵⁹. Il s'agissait d'une étude observationnelle, prospective chez 897 patients adultes admis dans une unité de soins intensifs post-opératoires d'un grand centre tertiaire. Les patients âgés de moins de 16 ans étaient exclus (n=10), ainsi que ceux avec une hémoglobine < 110 g/l ou une coagulopathie (n=12) avant l'opération, ceux avec un antécédent de transfusion (n=15). Étaient aussi exclus les patients qui restaient moins de 48 heures aux soins intensifs, que ce soit parce qu'ils décédaient ou pouvaient quitter rapidement les soins intensifs (n=40). L'analyse finale était faite avec 795 patients (88% des patients éligibles).

La variable indépendante était la durée d'entreposage, analysée chez les polytransfusés soit en fonction de la durée moyenne soit en fonction de la durée du culot entreposé le plus longtemps. De plus, ils utilisaient aussi la durée d'entreposage la plus courte pour les patients multi-transfusés. Enfin, la durée d'entreposage du sang transfusé pendant l'intervention chirurgicale était aussi utilisé pour l'analyse.

Les critères de jugement utilisés étaient une durée d'hospitalisation aux soins intensifs pendant plus de 4 jours, une ventilation mécanique pendant plus de 24 heures, un infarctus péri-opératoire et une infection sévère (pneumonie, médiastinite et/ou sepsis), définie selon des critères proposés par Bone en 1991⁷⁸).

Les auteurs ont utilisé plusieurs modèles de régression logistique pour déterminer l'effet de la durée d'entreposage, en ajustant pour plusieurs co-variables (le plus souvent l'âge, la sévérité à l'admission, le type de chirurgie, le nombre de culots transfusés, mais aussi le besoin de réintubation ou l'alimentation entérale).

Les auteurs n'ont rapporté qu'une seule association, les pneumonies étant associées à la durée d'entreposage, avec un rapport de cotes (odds ratio) de pneumonie pour un culot entreposé > 28 jours de 2.74 (95% CI 1.18 à 6.36; p=0.019). Aucune autre association

indépendante entre la durée d'entreposage des culots et les autres critères de jugements (durée de ventilation, durée de séjour, infarctus, ou autres infections) n'a été mise en évidence. Tous les critères de jugement étaient principalement associés à des facteurs de sévérité de la maladie (score APACHE, durée de circulation extra-corporelle, réintubation, besoin de ballon à contre-pulsion aortique, dysfonction du système neurologique central) et au nombre de transfusions.

Cette grande étude ne rapporte qu'une association entre la durée d'entreposage des CE et le risque de pneumonie, sans augmentation du temps de ventilation, ni de la durée de séjour aux soins intensifs. Ces résultats peuvent peut-être s'expliquer par les définitions des critères de jugement. En effet, la durée de ventilation et la durée de séjour n'étaient pas analysées comme des données continues, mais avaient été dichotomisées (durée de ventilation > 24 heures, durée de séjour > 4 jours). Ainsi, la mesure de l'effet est moins sensible, ce qui peut expliquer l'absence d'association. Par ailleurs, les auteurs ont utilisé des modèles de régression différents pour chaque critère de jugement, ce qui complique la comparaison entre les résultats. En outre, plus le nombre de co-variables est élevé dans un modèle de régression, plus la probabilité que chacun d'eux soit significatif est faible. Dès lors, il n'est pas étonnant que l'effet de la durée d'entreposage ne soit pas significatif quand le modèle compte une dizaine de variables, dont certaines très fortement associées au critère de jugement (comme par exemple la sévérité de la maladie, le nombre de réintubations, le temps de circulation extra-corporelle, et la dysfonction neurologique sont tous associés à la durée de ventilation). La généralisabilité de cette étude est aussi diminuée par le fait qu'il s'agissait d'une étude unicentrique, dans une population spécifique (post-opératoire de chirurgie cardiaque) et assez jeune (61 ans pour les patients transfusés).

Ainsi, l'étude de Leal-Noval publiée en 2003 est une des premières à s'être intéressée aux effets cliniques de la durée d'entreposage, mais souffre de certaines faiblesses méthodologiques. Cette étude suggère que la durée d'entreposage n'est pas associée à une augmentation cliniquement significative de la morbidité, mis à part des pneumonies.

4.2.2 Étude de Koch *et al* en 2008

En 2008, Koch *et al* ont publié une autre grande étude observationnelle sur la durée d'entreposage, à nouveau parmi des patients de chirurgie cardiaque adulte opérés à la Cleveland Clinic, en Ohio⁵⁸. Cette étude, rétrospective, compare les patients qui ont reçu uniquement du *sang jeune* (≤ 14 jours) à ceux qui ont reçu uniquement du *sang vieux* (> 14 jours). En raison de la politique locale de la banque de sang, le plus vieux sang disponible était toujours administré en premier. Le critère de jugement primaire était un critère composite, comprenant la mortalité, un infarctus du myocarde, une asystolie, une tachycardie ou une fibrillation ventriculaire, une tamponnade, une dissection fémorale ou aortique, une insuffisance rénale, un sepsis, une insuffisance respiratoire, une embolie pulmonaire, une pneumonie, un accident vasculaire cérébral, un coma, une infection sternale, une ventilation prolongée, une insuffisance multi-organique, ou encore une ischémie d'un membre. Un modèle de régression logistique a permis d'ajuster pour les cofacteurs.

Au total, 6002 patients ont été inclus, sur une période de plus de 7 ans. En analyse univariée, la proportion de patients ayant développé le critère de jugement primaire pour le groupe ayant reçu exclusivement du sang de plus de 14 jours était de 25.9% par rapport à 22.4% ($p=0.001$) pour le groupe ayant reçu du *sang jeune*. Il y avait aussi une différence de mortalité entre les deux groupes (2.8% vs. 1.7%, $p=0.004$). En ajustant pour les facteurs confondants, l'odds ratio pour le critère de jugement primaire était de 1.16 (95%CI 1.01 à 1.33, $p=0.03$).

Cette étude a comme principal point fort la taille de l'échantillon, et une attribution aux groupes *sang jeune* et *sang vieux* sans biais lié à la manœuvre, étant donné qu'aucun patient retenu pour l'analyse n'avait reçu à la fois du *sang jeune* et du *sang vieux*. Par contre, cette étude est rétrospective, et les patients sont peu malades (mortalité de 2.8% et 1.7%). Par ailleurs, cette étude souffre aussi de plusieurs biais potentiels, comme des

différences significatives entre les deux groupes, principalement en terme de représentativité des groupes sanguins (et donc la probabilité d'avoir du sang jeune dans la banque de sang), et l'absence de correction pour certains paramètres qui auraient pu sembler importants, tel que l'urgence des interventions chirurgicales, les pertes per-opératoires, les ré-interventions en raison de saignement, ou encore les traitements anti-fibrinolytiques. De plus, le critère de jugement primaire est un score composite non validé qui comprend 19 critères. Néanmoins, ce score correspond à la notion de morbidité aux soins intensifs, et s'apparente jusqu'à un certain point au concept de SDM_V nouveau ou progressif (*new or progressive MODS*).

Ainsi, malgré ces limitations, cette étude est la première à retrouver une association entre la durée d'entreposage et la morbidité, chez des patients de soins intensifs adultes.

4.2.3 Étude de Van de Watering *et al* en 2008

La même année, Van de Watering *et al* ont publié une étude similaire, faite aux Pays-Bas en se servant d'une base de données comprenant 2732 patients opérés pour un pontage coronarien entre 1993 et 1999. Seuls les patients ayant reçu une transfusion dans les trois jours précédant l'intervention et la journée suivant l'opération étaient inclus. La variable indépendante, la durée d'entreposage chez les polytransfusés était analysée en fonction de la durée d'entreposage la plus courte, la plus longue, et la moyenne des durées. Le critère de jugement primaire était la durée d'hospitalisation aux soins intensifs, et la mortalité était le critère de jugement secondaire.

Les auteurs ne rapportent pas de différences sur la durée de séjour aux soins intensifs, ni sur la mortalité à 30 jours, quelle que soit la durée d'entreposage. Ils concluent donc qu'il n'y a pas de justification pour limiter la durée d'entreposage des CE chez les patients bénéficiant d'un pontage coronarien.

Ces résultats négatifs peuvent s'expliquer par la sévérité modérée de la maladie dans la population étudiée. En effet, la durée médiane de l'hospitalisation aux soins

intensifs n'était que de 2 jours, ce qui signifie une assez faible sévérité de la maladie. Car comme le suggèrent Cohen *et al*, les chances qu'une intervention améliore un critère de jugement chez des patients peu malades ou très malades sont faibles⁷⁹. Dès lors, il n'est pas surprenant que la durée d'entreposage ne soit pas associée à une augmentation de la morbidité dans cette population spécifique.

4.2.4 Étude de Edgren *et al* en 2010

En 2010, Edgren et al ont publié une grande étude observationnelle. Ils ont analysé de façon rétrospective la survie à court terme (jusqu'à 7 jours) et à moyen terme (jusqu'à deux ans) de tous les patients suédois et danois ayant bénéficié d'une transfusion entre 1995 et 2002. Alors que le nombre d'épisodes de transfusion éligible était de 807 833, l'analyse ne porte que sur 380 549 épisodes de transfusion (47.1%) en raison des critères d'exclusion. Les principales raisons d'exclusion étaient des transfusions dans des petits hôpitaux (<5000 transfusions sur la période de 7 ans, n=137 074), un groupe sanguin inconnu (n=113 012), et une population en dehors des limites d'âge (< 15 ans ou > 90 ans, n=58 490).

L'analyse de cette base de données n'a pas démontré de différence de mortalité en fonction de la durée d'entreposage, que ce soit à court ou à moyen terme, à l'exception du sous-groupe de patients n'ayant reçu que du sang entreposé plus de 30 jours (risque de mortalité à 2 ans de 1.05 (95%CI 1.02; 1.08).

Ces résultats négatifs peuvent probablement aussi s'expliquer par la faible sévérité de la maladie de ces patients. En effet, il s'agit d'une population générale, et non seulement d'une population de soins intensifs. Dès lors, même si du *vieux sang* est potentiellement néfaste, son effet n'est probablement pas si important qu'il puisse modifier l'évolution clinique de patients peu malades. Ainsi, même si cette étude comporte un nombre inhabituellement élevé de patients, ces résultats ne permettent pas d'affirmer que du *vieux sang* n'est pas associé à une augmentation de la mortalité chez des patients sévèrement

malades, mais tout au plus de rassurer la population générale de patients transfusés que du vieux sang ne semble pas néfaste.

4.2.5 Étude de Kneyber *et al* en 2009

La seule étude pédiatrique sur l'effet de la durée d'entreposage en soins intensifs pédiatriques a été publiée en 2009 par Kneyber après que notre étude ait été acceptée pour publication⁸⁰. Il s'agit d'une analyse secondaire d'une étude qu'ils avaient publiée en 2007, laquelle portait sur l'association entre le nombre de transfusions et la mortalité¹¹. Les auteurs avaient alors analysé de façon rétrospective une base de données de 295 enfants, dont 67 enfants ayant été transfusés dans leur unité en 2003, et avaient décrit une association significative entre le nombre de transfusions et la mortalité, en ajustant pour la sévérité de la maladie et le taux d'hémoglobine pré-transfusionnel (odds ratio de 9.95, 95%CI 1.28-77.15, p=0.03). L'analyse secondaire, qui n'avait pas été planifiée *a priori*, visait à rechercher s'il existait une association entre la durée d'entreposage des culots et la mortalité. Ils ont donc comparé la durée moyenne d'entreposage entre les patients décédés (n=11) et les survivants (n=56) et n'ont pas trouvé de différences statistiquement significatives. Les auteurs concluaient donc qu'aucune association entre la durée d'entreposage et la mortalité n'avait pu être démontrée dans leur population.

Les résultats de cette étude ne sont pas surprenants, au vu de la taille d'échantillon. En effet, même si les auteurs l'ont omis dans leur article, un calcul de la puissance est indispensable. Pour pouvoir trouver par exemple une différence de mortalité de 10% entre deux groupes (qui passerait de 16.4% à 14.8%), il aurait fallu avoir plus de 6000 participants dans chaque groupe (pour un alpha = 0.05 et un béta = 0.20). Pour une différence de 25%, il aurait fallu 900 patients dans chaque groupe. Ainsi, avec un total de 67 patients, il est impossible de conclure sur une absence d'association. Par ailleurs, la méthodologie décrite (analyse secondaire non planifiée *a priori*, étude rétrospective,

absence de définition de la durée pendant laquelle la mortalité a été mesurée, absence d'ajustement pour des co-facteurs) rend l'interprétation des résultats encore plus délicate.

Ainsi, en comparant nos résultats avec ceux de ces autres études, il apparaît que notre étude a plusieurs points forts : une récolte prospective des données, une population hétérogène (et non uniquement une seule population de patients, que ce soit de chirurgie cardiaque ou de traumatologie), une étude multicentrique, et une méthodologie rigoureuse avec un critère de jugement primaire bien défini et basé sur des critères diagnostiques objectifs. En conclusion, comme cette étude a aussi une bonne validité interne et externe, elle amène de nouvelles informations pertinentes, étant donné qu'il s'agit en fait de la première grande étude pédiatrique d'envergure sur le sujet.

4.3 Prochaine étape : une étude randomisée

Comme cette étude est observationnelle, et non interventionnelle, elle ne permet que de mesurer une association, et non de s'assurer qu'il existe un lien de causalité entre la durée d'entreposage et l'augmentation de la morbidité chez ces patients. En effet, toute étude observationnelle souffre de biais qui leur sont propres, que l'ajustement par un modèle de régression logistique ne permet pas de compenser complètement. Dès lors, avant de prendre des décisions en fonction des résultats de cette étude, il convient de s'assurer de cette causalité. Seule une étude randomisée permet de s'affranchir de ces biais de sélection, étant donné qu'une randomisation bien menée permet de s'assurer que les deux groupes sont similaires au départ.

Afin de pouvoir tester l'hypothèse que du sang entreposé plus longtemps cause une augmentation de la morbidité, on pourrait randomiser les patients entre deux groupes, l'un recevant du *sang vieux*, l'autre du *sang jeune*. Cela impliquerait que l'on donnerait délibérément du sang vieux au second groupe de patients, ce qui s'écarte de la conduite standard actuelle. En effet, la politique standard actuelle des banques de sang consiste à

donner le sang le plus vieux disponible dans leur réserve pour un patient donné. Cette politique permet de maintenir le taux de perte de produits sanguins en deçà de 1%. Elle n'implique pas que les patients reçoivent nécessairement du *sang vieux*, comme le démontre une étude faite à Halifax, dans laquelle 1.5% des patients reçoivent du sang entreposé depuis moins d'une semaine⁸¹. Un essai clinique randomisé comparant du sang jeune à du sang vieux permettrait de répondre à la question : le sang vieux est-il nocif. Cependant, une telle étude serait difficile à défendre sur le plan éthique, parce que cette conduite s'écarterait des politiques présentement en cours. Un essai clinique comparant du sang jeune à du sang délivré au patient selon la politique standard actuelle répondrait à une autre question : donner du sang jeune plutôt que du sang délivré de façon standard améliore-t-il vraiment le sort de patients transfusés en soins intensifs? Cette question comporte deux grands avantages : elle est éminemment pragmatique et beaucoup plus facile à défendre sur le plan éthique. De plus, une telle étude permettrait de savoir si donner seulement du sang jeune est une politique vraiment meilleure que celle utilisée de façon standard présentement. Cependant, il faut absolument s'assurer que les chances d'observer une différence dans la durée d'entreposage des deux groupes est assez grande pour qu'on puisse s'attendre à observer une différence clinique. On sait que la durée d'entreposage moyenne du sang délivré de façon standard se chiffre entre 17 et 21 jours. Une étude pilote a démontré que la durée moyenne d'entreposage du sang donné à un groupe sang jeune se chiffre à environ 5 jours si le sang délivré à ce groupe ne dépasse pas 7 jours au maximum⁸². La différence entre les deux groupes devrait donc être suffisante.

L'étude ABLE (ISRCTN44878718) est un essai clinique randomisé multicentrique dont le plan de base consiste justement à comparer l'évolution d'adultes transfusés seulement avec du sang entreposé depuis moins de 7 jours ou avec du sang délivré de façon standard. Une étude pédiatrique est en préparation.

4.4 Conséquences cliniques

4.4.1 Adaptation des limites de la durée d'entreposage

Les résultats de notre étude suggèrent que les transfusions de CE entreposés pendant plus de deux semaines sont indépendamment associées à une augmentation de la morbidité chez les enfants admis plus de 48 heures aux soins intensifs.

Tout d'abord, il convient de souligner que ces résultats ne sont généralisables que pour une population spécifique, celle des enfants transfusés et sévèrement malades, admis dans une unité de soins intensifs pédiatriques. Ces conclusions ne s'appliquent pas aux prématurés, ni aux enfants moins malades. Dès lors, cette discussion ne concerne pas toutes les transfusions, que ce soit en salle d'opération ou chez les patients en hémato-oncologie. D'autres études doivent évaluer l'effet de la durée d'entreposage parmi ces populations, avant de pouvoir en tirer des conclusions et de changer les pratiques courantes.

Parmi la population d'enfants admis aux soins intensifs pendant plus de 48 heures, il existe des arguments assez convaincants suggérant que les transfusions de sang entreposées plus de 14 jours sont néfastes. Ainsi, si des études randomisées démontrent les mêmes effets du *sang vieux*, il conviendra de discuter de la nécessité de ne plus offrir à cette population ce traitement, et de ne transfuser que du sang entreposé moins de 14 jours. En effet, il semblerait alors injustifiable de donner un traitement qui serait reconnu pour doubler la morbidité.

4.4.2 Impacts de ces adaptations de limites de durée d'entreposage

Bien qu'il puisse sembler justifié de limiter la durée d'entreposage des CE pour certains patients, notamment les enfants sévèrement malades hospitalisés aux soins intensifs, il est important d'évaluer les impacts sociaux potentiels d'une telle décision.

En effet, les banques de sang ont entre autres la tâche de gérer les stocks de sang, et de les distribuer de façon à minimiser le gaspillage. Dès lors, il est généralement conseillé d'utiliser les culots qui vont se périmer prochainement, et les banques de sang distribuent d'abord le sang entreposé le plus longtemps. Par ailleurs, dans certaines régions, et notamment au Québec, la distribution entre les différents hôpitaux implique que le sang frais est envoyé prioritairement dans les centres périphériques éloignés. Si les culots ne sont pas utilisés après quelques semaines, ils sont réexpédiés vers les centres tertiaires, où les probabilités de les utiliser sont plus grandes, en raison de la médecine qui y est pratiquée (chirurgie plus complexe, services d'onco-hématologie, centre de traumatologie, etc.). Dès lors, les unités de soins intensifs se voient proposer du sang entreposé en général plus longtemps que les hôpitaux plus éloignés.

Ainsi, si la décision de ne proposer que du *sang jeune* dans les unités de soins intensifs était prise, il faudrait revoir cette stratégie de distribution. Ceci impliquerait peut-être garder une partie du *sang jeune* dans les centres tertiaires, et donc de devoir envoyer du sang entreposé plus longtemps en périphérie. Dès lors, afin d'assurer suffisamment de sang dans ces centres, il faudrait aussi retarder la limite pour ramener le sang dans les centres tertiaires. Ceci aurait principalement deux conséquences. La première est que les patients traités dans les centres primaires, mais qui ne seraient pas identifiés comme candidats à du *sang jeune*, se verraient transfuser du sang entreposé en moyenne plus longtemps qu'actuellement. Néanmoins, il est probable que du *vieux* sang ne soit pas néfaste pour ces patients. La seconde conséquence est la disponibilité du sang. En effet, en retardant le retour du sang vers les centres périphériques, une plus grande proportion de ce sang ne sera pas transfusé avant sa date d'expiration, et sera donc gaspillé. Ceci contribuerait à une pénurie des produits sanguins. On pourrait même affirmer qu'il serait non éthique d'implanter une politique de transfusion de sang jeune sans en avoir démontré l'utilité clinique, car les conséquences pour les banques de sang pourraient s'avérer désastreuses. En effet, les pertes de produits sanguins sont inférieures à 1% présentement; elles augmenteraient à 30% si l'on abaissait la durée d'entreposage maximale de 42 à 21 jours⁸³. Aucun système de distribution de produits sanguins ne pourrait affronter les problèmes qui

s'ensuivraient. Néanmoins, comme l'adaptation de la durée d'entreposage ne concerne que les patients de soins intensifs sévèrement malades, il est probable que les conséquences ne soient que minimales.

Il faut dès lors prendre des décisions en prenant en compte de tous les aspects du problème, afin de s'assurer que la solution optimale soit implantée, en prenant en compte la sévérité de la maladie des patients, les indications de transfusion, la stratégie de distribution locale et régionale, les coûts économiques et leurs répercussions respectives.

5 Conclusion

Les transfusions sanguines sont un traitement très fréquent aux soins intensifs, tant adultes que pédiatriques. Or, la durée d'entreposage des CE semble avoir un effet sur la morbidité des patients. Chez des enfants sévèrement malades, notre étude démontre une association indépendante entre une durée d'entreposage de plus de 14 jours et un doublement de la morbidité, mesurée en terme d'apparition ou de progression d'un SDM.V. Même s'il s'agit de la première grande étude pédiatrique, d'autres études cliniques ont rapporté des résultats similaires dans des populations adultes. De plus, de nombreuses expériences *in vitro* proposent des mécanismes qui permettent de mieux comprendre ces effets cliniques. Néanmoins, comme cette étude est observationnelle, plusieurs biais interviennent, lesquels ne permettent pas de mesurer la magnitude de l'association ni de vérifier s'il existe réellement un lien de cause à effet entre la durée d'entreposage et l'évolution plus ou moins bonne des patients transfusés en soins intensifs. Ainsi, il est généralement reconnu qu'il faut deux études randomisées avant d'imposer des changements pour une politique donnée.

Ainsi, réduire la durée d'entreposage pour certains patients très malades, plus à risque de complications, aurait des répercussions minimales sur le système de santé. Les CE sont une denrée rare et coûteuse, et la gestion des stocks doit en garantir le maximum de disponibilité ainsi que le minimum de pertes dues à des culots périmés. Réduire la durée

maximale d'entreposage pour des patients de soins intensifs augmenterait légèrement la durée d'entreposage pour les autres patients, mais il est peu probable que ceci ait un effet sur leur santé, la mortalité de la population générale ne semblant pas influencée par la durée d'entreposage. Néanmoins, ceci pourrait conduire occasionnellement à une pénurie dans certaines régions ou pour certains groupes sanguins rares.

Il est donc essentiel non seulement d'évaluer les effets de la durée d'entreposage, par des études randomisées contrôlées, mais aussi les impacts des possibles changements de stratégie de distribution, afin de s'assurer de la prise en charge optimale de tous les patients nécessitant des transfusions.

Bibliographie

1. Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, et al. The CRIT Study: Anemia and blood transfusion in the critically ill--current clinical practice in the United States. *Crit Care Med* 2004;32:39-52.
2. Armano R, Gauvin F, Ducruet T, Lacroix J. Determinants of red blood cell transfusions in a pediatric critical care unit: a prospective, descriptive epidemiological study. *Crit Care Med* 2005;33:2637-44.
3. Bateman S, Lacroix J, Boven K, et al. Anemia, Blood Loss, and Blood Transfusions in North American Children in the Intensive Care Unit. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008;178:26-33.
4. Corwin HL. Erythropoietin use in critically ill patients: forest and trees. *CMAJ* 2007;177:747-9.
5. Marik PE, Sibbald WJ. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993;269:3024-9.
6. 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.
7. Walsh TS, McArdle F, McLellan SA, 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.
8. Mink RB, Pollack MM. Effect of blood transfusion on oxygen consumption in pediatric septic shock. *Crit Care Med* 1990;18:1087-91.
9. Lucking SE, Williams TM, Chaten FC, Metz RI, Mickell JJ. Dependence of oxygen consumption on oxygen delivery in children with hyperdynamic septic shock and low oxygen extraction. *Crit Care Med* 1990;18:1316-9.
10. Gong M, Thompson BT, Williams P, Pothier L, Boyce P, Christiani D. Clinical predictors of and mortality in acute respiratory distress syndrome: Potential role of red cell transfusion*. *Critical Care Medicine* 2005;33:1191-8.
11. Kneyber MC, Hersi M, Twisk JW, Markhorst D, Plötz F. Red blood cell transfusion in critically ill children is independently associated with increased mortality. *Intensive Care Med* 2007;33:1414-22.
12. Villari P. *The History of Giralamo Savonarola and his times*. London: Longman; 1863.
13. Ellis H. James Blundell, pioneer of blood transfusion. *Br J Hosp Med (Lond)* 2007;68:447.
14. Crile G. I. The Technique of Direct Transfusion of Blood. *Ann Surg* 1907;46:329-32.

15. Rous P, Turner J. The Preservation of Living Red Blood Cells in Vitro: Methods of Preservation. *Journal of Experimental Medicine* 1916;23:219-37.
16. Robertson O. Transfusion with preserved red blood cells. *British Medical Journal* 1918;1:691.
17. Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkung des Blutserums und der Lymphe. *Centralblatt f Bakteriologie, Parasitenkunde u Infektionskrankheiten* 1900;27:357-36.
18. Hektoen L. Isoagglutination of human corpuscles. *JAMA* 1907;XLVIII:1739-40.
19. Ottenberg R, Kaliski DJ, Friedman SS. Experimental agglutinative and hemolytic Transfusions. *J Med Res* 1913;28:141-63.
20. Loutit JF, Mollison PL. Advantages of a disodiumcitrate–glucose mixture as a blood preservative. *British Medical Journal* 1943;2:744-5.
21. Dumont LJ, AuBuchon JP. Evaluation of proposed FDA criteria for the evaluation of radiolabeled red cell recovery trials. *Transfusion* 2008;48:1053-60.
22. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17063-8.
23. Aboudara MC, Hurst FP, Abbott KC, Perkins RM. Hyperkalemia after packed red blood cell transfusion in trauma patients. *J Trauma* 2008;64:S86-91; discussion S.
24. Smith HM, Farrow SJ, Ackerman JD, Stubbs JR, Sprung J. Cardiac arrests associated with hyperkalemia during red blood cell transfusion: a case series. *Anesth Analg* 2008;106:1062-9, table of contents.
25. Isbell TS, Sun CW, Wu LC, et al. SNO-hemoglobin is not essential for red blood cell–dependent hypoxic vasodilation. *Nat Med* 2008;14:773-7.
26. Doctor A, Platt R, Sheram ML, et al. Hemoglobin conformation couples erythrocyte S-nitrosothiol content to O₂ gradients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:5709-14.
27. Hess JR. Red cell storage. *J Proteomics* 2010;73:368-73.
28. Relevy H, Koshkaryev A, Manny N, Yedgar S, Barshtein G. Blood banking-induced alteration of red blood cell flow properties. *Transfusion* 2008;48:136-46.
29. Hovav T, Yedgar S, Manny N, Barshtein G. Alteration of red cell aggregability and shape during blood storage. *Transfusion* 1999;39:277-81.
30. Aiboshi J, Moore EE, Ciesla DJ, Silliman CC. Blood transfusion and the two-insult model of post-injury multiple organ failure. *Shock* 2001;15:302-6.
31. Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffl WL, Silliman CC. Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA₂. *Shock* 2000;13:29-33.
32. Davoren A, Curtis BR, Shulman IA, et al. TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3a (5b) alloantibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities. *Transfusion* 2003;43:641-5.
33. Patel MB, Proctor KG, Majetschak M. Extracellular ubiquitin increases in packed red blood cell units during storage. *J Surg Res* 2006;135:226-32.
34. Lysenko L, Mierzchała M, Gamian A, et al. The effect of packed red blood cell storage on arachidonic acid and advanced glycation end-product formation. *Arch Immunol Ther Exp* 2006;54:357-62.

35. Sweeney J, Kouttab N, Kurtis J. Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation. *Transfusion* 2009.
36. Hod EA, Zhang N, Sokol SA, 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.
37. 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.
38. Wadhwa M, Seghatchian MJ, Dilger P, Contreras M, Thorpe R. Cytokine accumulation in stored red cell concentrates: effect of buffy-coat removal and leucoreduction. *Transfus Sci* 2000;23:7-16.
39. Seghatchian J, Krailadsiri P, Dilger P, Thorpe R, Wadhwa M. Cytokines as quality indicators of leucoreduced red cell concentrates. *Transfus Apher Sci* 2002;26:43-6.
40. Karam O, Tucci M, Toledano BJ, et al. Length of storage and in vitro immunomodulation induced by prestorage leukoreduced red blood cells. *Transfusion* 2009;49:2326-34.
41. Heddle NM, Klama LN, Griffith L, Roberts R, Shukla G, Kelton JG. A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions. *Transfusion* 1993;33:794-7.
42. Zallen G, Offner PJ, Moore EE, et al. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1999;178:570-2.
43. Leal-Noval SR, Muñoz-Gómez M, Arellano-Orden V, et al. Impact of age of transfused blood on cerebral oxygenation in male patients with severe traumatic brain injury. *Critical Care Medicine* 2008;36:1290-6.
44. Kiraly LN, Underwood S, Differding JA, Schreiber MA. Transfusion of aged packed red blood cells results in decreased tissue oxygenation in critically injured trauma patients. *J Trauma* 2009;67:29-32.
45. Creteur J, Neves AP, Vincent J-L. Near-infrared spectroscopy technique to evaluate the effects of red blood cell transfusion on tissue oxygenation. *Critical care (London, England)* 2009;13 Suppl 5:S11.
46. 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.
47. Yap CH, Lau L, Krishnaswamy M, Gaskell M, Yip M. Age of transfused red cells and early outcomes after cardiac surgery. *The Annals of Thoracic Surgery* 2008;86:554-9.
48. Dessertaine G, Hammer L, Chenais F, et al. L'âge des culots globulaires transfusés influence-t-il toujours le pronostic des patients en réanimation ? *Transfusion Clinique et Biologique* 2008;15:154-9.
49. Edgren G, Kamper-Jorgensen M, Eloranta S, et al. Duration of red blood cell storage and survival of transfused patients (CME). *Transfusion* 2010;50:1185-95.
50. Lacroix J, Toledano B. Erythropoietin for critically ill children. *Pediatr Crit Care Med* 2003;4:123-4.

51. Leteurtre S, Martinot A, Duhamel A, et al. Validation of the paediatric logistic organ dysfunction (PELOD) score: prospective, observational, multicentre study. *Lancet* 2003;362:192-7.
52. Pollack MM, Patel KM, Ruttimann UE. PRISM III: an updated Pediatric Risk of Mortality score. *Crit Care Med* 1996;24:743-52.
53. Proulx F, Fayon M, Farrell CA, Lacroix J, Gauthier M. Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children. *Chest* 1996;109:1033-7.
54. Lacroix J, Hébert P, Hutchison JS, et al. Transfusion strategies for patients in pediatric intensive care units. *N Engl J Med* 2007;356:1609-19.
55. Schlesselman JJ. Sample size requirements in cohort and case-control studies of disease. *Am J Epidemiol* 1974;99:381-4.
56. Offner PJ, Moore E, Biffl WL, Johnson J, Silliman CC. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)* 2002;137:711-6; discussion 6-7.
57. Weinberg JA, McGwin G, Jr., Griffin RL, et al. Age of transfused blood: an independent predictor of mortality despite universal leukoreduction. *J Trauma* 2008;65:279-82; discussion 82-4.
58. Koch CG, Li L, Sessler DI, et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:1229-39.
59. Leal-Noval SR, Jara-López I, García-Garmendia JL, et al. Influence of erythrocyte concentrate storage time on postsurgical morbidity in cardiac surgery patients. *Anesthesiology* 2003;98:815-22.
60. Middelburg RA, van de Watering LM, van der Bom JG. Blood transfusions: good or bad? Confounding by indication, an underestimated problem in clinical transfusion research. *Transfusion* 2010;50:1181-3.
61. Castello FV, Cassano A, Gregory P, Hammond J. The Pediatric Risk of Mortality (PRISM) Score and Injury Severity Score (ISS) for predicting resource utilization and outcome of intensive care in pediatric trauma. *Crit Care Med* 1999;27:985-8.
62. Mehta RM, Niederman MS. Nosocomial pneumonia in the intensive care unit: controversies and dilemmas. *J Intensive Care Med* 2003;18:175-88.
63. Venkataraman R, Kellum JA. Defining acute renal failure: the RIFLE criteria. *J Intensive Care Med* 2007;22:187-93.
64. 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.
65. Hébert P, Chin-Yee I, Fergusson D, et al. A pilot trial evaluating the clinical effects of prolonged storage of red cells. *Anesth Analg* 2005;100:1433-8, table of contents.
66. Mynster T, Nielsen HJ. The impact of storage time of transfused blood on postoperative infectious complications in rectal cancer surgery. Danish RANX05 Colorectal Cancer Study Group. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:212-7.
67. Taylor R, O'Brien J, Trottier S, et al. Red blood cell transfusions and nosocomial infections in critically ill patients. *Critical Care Medicine* 2006;34:2302-8; quiz 9.

68. 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.
69. Sakr Y, Chierigo M, Piagnerelli M, et al. Microvascular response to red blood cell transfusion in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2007;35:1639-44.
70. Namachivayam P, Shann F, Shekerdemian L, et al. Three decades of pediatric intensive care: Who was admitted, what happened in intensive care, and what happened afterward. *Pediatr Crit Care Med* 2010;11:549-55.
71. ten Berge J, de Gast-Bakker DA, Plotz FB. Circumstances surrounding dying in the paediatric intensive care unit. *BMC Pediatr* 2006;6:22.
72. Slater A, Shann F, Pearson G, Group PIoMPS. PIM2: a revised version of the Paediatric Index of Mortality. *Intensive Care Medicine* 2003;29:278-85.
73. Leteurtre S, Martinot A, Duhamel A, et al. Development of a pediatric multiple organ dysfunction score: use of two strategies. *Med Decis Making* 1999;19:399-410.
74. Wilkinson JD, Pollack MM, Ruttimann UE, Glass NL, Yeh TS. Outcome of pediatric patients with multiple organ system failure. *Crit Care Med* 1986;14:271-4.
75. Steiner ME, Assmann SF, Levy JH, 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.
76. Korn EL, Dodd LE, Freidlin B. Measurement error in the timing of events: effect on survival analyses in randomized clinical trials. *Clin Trials* 2010.
77. Panageas KS, Ben-Porat L, Dickler MN, Chapman PB, Schrag D. When you look matters: the effect of assessment schedule on progression-free survival. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:428-32.
78. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115:457-69.
79. Cohen J, Guyatt G, Bernard GR, et al. New strategies for clinical trials in patients with sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:880-6.
80. 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 Medicine* 2009;35:179-80.
81. Cheng CK, Trethewey D, Sadek I. Comprehensive survey of red blood cell unit life cycle at a large teaching institution in eastern Canada. *Transfusion* 2010;50:160-5.
82. Hebert PC, Chin-Yee I, Fergusson D, et al. A pilot trial evaluating the clinical effects of prolonged storage of red cells. *Anesth Analg* 2005;100:1433-8, table of contents.
83. Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang* 2009;96:93-103.

Annexe 1 : Critères de défaillance multi-systémique

Une défaillance multi-systémique est définie comme la dysfonction d'au moins deux systèmes. Chaque insuffisance ou dysfonction d'organe est définie par la survenue d'au moins un critère⁵³. Les patients décédés doivent être considérés comme ayant une dysfonction de tous les systèmes le jour du décès.

A. Insuffisance respiratoire

1. Fréquence respiratoire > 90 /min (< 1 an) or > 70 /min (≥ 1 an);
2. $\text{PaO}_2 < 40$ mmHg (5.3 kPa) en absence de cardiopathie cyanogène;
3. $\text{PaCO}_2 > 65$ mmHg (8.7 kPa);
4. $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ en absence de cardiopathie cyanogène;
5. Ventilation mécanique (> 24 heures si post-opératoire).

B. Insuffisance cardiovasculaire

1. Tension artérielle systolique < 40 mmHg (< 1 an) ou < 50 mmHg (> 1 an);
2. Fréquence cardiaque < 50 ou > 220 /min (< 1 an) ou < 40 ou > 200 /min (> 1 an);
3. Arrêt cardiaque;
4. $\text{pH} < 7.2$ avec PaCO_2 normale;
5. Support inotropique en perfusion (à l'exclusion de Dopamine ≤ 5 mcg/kg/min).

C. Insuffisance hématologique

1. Hémoglobine < 50 g/L;
2. Leucocytes $< 3 \times 10^9$ /L (3 000/mm³);

3. Plaquettes $< 20 \times 10^9/L$ ($20\,000/mm^3$);
4. Coagulation intravasculaire disséminée (PT > 20 secondes ou aPTT > 60 secondes en présence de D-dimères > 0.5 mg/mL).

D. Insuffisance neurologique

1. Glasgow coma score < 5 ;
2. Pupilles fixes et dilatées.

E. Insuffisance hépatique

1. Bilirubine totale > 60 mmol/L (3 mg/dL).

F. Insuffisance gastro-intestinale

Hémorragie digestive haute et au moins un des critères suivants:

1. Chute de l'hémoglobine de > 20 g/L (> 2 g/dL);
2. Transfusion sanguine;
3. Hypotension avec tension artérielle $< 3^{\text{ème}}$ percentile pour l'âge;
4. Chirurgie gastrique ou duodénale.

G. Dysfonction rénale

1. Urée > 36 mmol/L (> 100 mg/dL);
2. Créatinine > 177 mcmmol/L (> 2.0 mg/dL) sans insuffisance rénale préalable;
3. Dialyse et/ou hémofiltration.

Annexe 2 : Score de PELOD

Ce score, évaluant la sévérité de la maladie, est décrit par Leteurtre et al.⁵¹

	Scoring system			
	0	1	10	20
Organ dysfunction and variable				
Neurological*				
Glasgow coma score	12–15	7–11	4–6	3
Pupillary reactions	and Both reactive	NA	or Both fixed	NA
Cardiovascular†				
Heart rate (beats/min)				
<12 years	≤195	NA	>195	NA
≥12 years	≤150	NA	>150	NA
	and		or	
Systolic blood pressure (mm Hg)				
<1 month	>65	NA	35–65	<35
1 month–1 year‡	>75	NA	35–75	<35
1–12 years‡	>85	NA	45–85	<45
≥12 years	>95	NA	55–95	<55
Renal				
Creatinine (μmol/L)				
<7 days	<140	NA	≥140	NA
7 days–1 year‡	<55	NA	≥55	NA
1–12 years‡	<100	NA	≥100	NA
≥12 years	<140	NA	≥140	NA
Respiratory§				
PaO ₂ (kPa)/FIO ₂ ratio	>9.3	NA	≤9.3	NA
	and		or	
PaCO ₂ (kPa)	≤11.7	NA	>11.7	NA
Mechanical ventilation§	No ventilation	Ventilation	NA	NA
Haematological				
White blood cell count (×10 ⁹ /L)	≥4.5	1.5–4.4	<1.5	NA
	and	or		
Platelets (×10 ⁹ /L)	≥35	<35	NA	NA
Hepatic				
Aspartate transaminase (IU/L)	<950	≥950	NA	NA
	and	or		
Prothrombin time¶ (or INR)	>60 (<1.40)	≤60 (≥1.40)	NA	NA

PaO₂=arterial oxygen pressure. FIO₂=fraction of inspired oxygen. PaCO₂=arterial carbon dioxide pressure. INR=international normalised ratio. *Glasgow coma score: use lowest value. If patient is sedated, record estimated Glasgow coma score before sedation. Assess patient only with known or suspected acute central nervous system disease. Pupillary reactions: non-reactive pupils must be >3 mm. Do not assess after iatrogenic pupillary dilatation. †Heart rate and systolic blood pressure: do not assess during crying or iatrogenic agitation. ‡Strictly less than. §PaO₂: use arterial measurement only. ¶Percentage of activity. PaO₂/FIO₂ ratio, which cannot be assessed in patients with intracardiac shunts, is considered as normal in children with cyanotic heart disease. PaCO₂ may be measured from arterial, capillary, or venous samples. Mechanical ventilation: the use of mask ventilation is not counted as mechanical ventilation.

Table 1: **PELOD scoring system**¹²

Annexe 3 : Score de PRISM III

Ce score, évaluant la sévérité de la maladie, est décrit par Pollack et al.⁵²

PRISM III				PRISM III (continued)			
CARDIOVASCULAR/NEUROLOGIC VITAL SIGNS (1-6)				HEMATOLOGY TESTS (1,2)			
Systolic Blood Pressure (mm Hg)		Heart Rate (beats per minute)		Creatinine	Blood Urea Nitrogen (BUN)		
Measurement _____		Measurement _____		Measurement _____	Measurement _____		
Score=3		Score=7		Score=2		Score=3	
Neonate	40-55	<40		Neonate	>0.85 mg/dL or >75 µmol/L	Neonate	>11.9 mg/dL or >4.3 mmol/L
Infant	45-65	<45		Infant	>0.90 mg/dL or >80 µmol/L	All Other Ages	>14.9 mg/dL or >5.4 mmol/L
Child	55-75	<55		Child	>0.90 mg/dL or >80 µmol/L		
Adolescent	65-85	<65		Adolescent	>1.30 mg/dL or >115 µmol/L		
Temperature		Pupillary Reflexes		OTHER FACTORS (10)			
Measurement _____		Measurement _____		White Blood Cell Count (cells/mm³)		Prothrombin Time (PT) or Partial Thromboplastin Time (PTT) (seconds)	
All Ages		All Ages		Measurement _____		Measurement _____	
Score=3		Score=7		Score=4		Score=3	
<33 °C (91.4 °F)		One fixed,		<3,000		Neonate PT >22.0 or PTT >85.0	
or >40.0 °C (104.0 °F)		Both fixed		All ages		All Other Ages PT >22.0 or PTT >57.0	
		one reactive					
Mental Status				Platelet Count (cells/mm³)			
Measurement _____				Measurement _____			
All Ages				All ages			
Score=5				Score=2			
Stupor/Coma (GCS <8)				100,000-200,000			
				Score=4			
				50,000-99,999			
				Score=5			
				<50,000			
ACID-BASE/BLOOD GASES (1,2,7,8)				TOTAL PRISM III SCORE _____			
Acidosis (Total CO₂ (mmol/L) or pH)		Total CO₂ (mmol/L)		OTHER FACTORS (10)			
Measurement _____		Measurement _____		<input type="checkbox"/> Nonoperative CV disease			
All Ages		All Ages		<input type="checkbox"/> Chromosomal anomaly			
Score=2		Score=4		<input type="checkbox"/> Cancer			
pH 7.0-7.28		>34.0		<input type="checkbox"/> Previous PICU admission			
or total CO ₂ 5-16.9				<input type="checkbox"/> Pre-ICU CPR			
				<input type="checkbox"/> Post-operative			
				<input type="checkbox"/> Acute diabetes (eg DKA)			
				<input type="checkbox"/> Admission from inpatient unit (exclude post-operative patients)			
pH		PaO₂ (mm Hg)		Notes:			
Measurement _____		Measurement _____		1. PRISM III mortality risk equations are available for the first 12 hours and the first 24 hours of PICU care.			
All Ages		All Ages		2. General: Use the highest and/or the lowest values for scoring. When there are both low and high ranges, PRISM III points may be assigned for the low and the high ranges. Readmissions are included as separate patients. Exclude admissions routinely cared for in other hospital locations, staying in the PICU < 2 hours; and those admitted in continuous CPR who do not achieve stable vital signs for > 2 hours. Deaths occurring in the OR are included only if the operation occurred during the PICU stay and was a therapy for the illness requiring PICU care. Terminally ill patients transferred from the PICU for "comfort care" are included as PICU patients for the 24 hours following PICU discharge or, if receiving technologic support, until 24 hours after the technologic support is discontinued. Ages: Neonate = 0 - <1 month; Infant = ≥1 month - 12 months; Child = ≥12 months - 144 months; Adolescent >144 months.			
Score=2		Score=3		3. Heart Rate: Do not assess during crying or iatrogenic agitation.			
7.48-7.55		42.0-49.9		4. Temperature: Use rectal, oral, blood, or axillary temperatures.			
>7.55		<42.0		5. Pupillary Reflexes: Nonreactive pupils must be >3 mm. Do not assess after iatrogenic pupillary dilatation.			
				6. Mental Status: Include only patients with known or suspected, acute CNS disease. Do not assess within 2 hours of sedation, paralysis, or anesthesia. If there is constant paralysis and/or sedation, use the time period without sedation, paralysis, or anesthesia closest to the PICU admission for scoring. Stupor/coma is defined as GCS score < 8 or stupor/coma using other mental status scales.			
PCO₂ (mm Hg)				7. Acid-Base: Use calculated bicarbonate values from blood gases only if total CO ₂ is not measured routinely. pH and PCO ₂ may be measured from arterial, capillary, or venous sites.			
Measurement _____				8. PaO ₂ : Use arterial measurements only.			
All Ages				9. Whole Blood Corrections: Whole blood measurements should be increased as follows: glucose - 10%; sodium - 3 mmol/L; potassium - 0.4 mmol/L. (Pediatric Reference Ranges, Seldin SJ, Hicks JM eds, AACCP Press, Washington, D.C., 1995).			
Score=1				10. Nonoperative CV disease includes acute cardiac and vascular conditions as the primary reasons for admission. Cancer and chromosomal anomalies are acute or chronic. Previous PICU admission and pre-ICU CPR refer to the current hospital admission. CPR requires cardiac massage. Post-operative is the initial 24 hours following an OR surgical procedure. Catheterizations are not post-operative. Acute diabetes includes acute manifestation of diabetes (e.g. DKA) as the primary reason for PICU admission. Admission from routine care areas includes all inpatient locations except the operating or recovery rooms.			
50.0-75.0							
>75.0							
CHEMISTRY TESTS (1,2,9)							
Glucose		Potassium (mmol/L)					
Measurement _____		Measurement _____					
All ages		All ages					
Score=2		Score=3					
>200 mg/dL or >11.0 mmol/L		>6.9					