

**MODÈLE D'ÉVALUATION  
D'UN AUTOMATE À IMPRÉGNATION DE TISSU  
(TISSUE TEK® XPRESS® x120)**

Rapport préparé par l'UETMIS du CHU Sainte-Justine

par  
Nina N'Diaye  
Johanne Samson

**Janvier 2010**

## **MISSION**

La mission de l'unité d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (UETMIS) est de **soutenir les prises de décision** par l'utilisation d'une approche d'évaluation claire et transparente, basée sur une revue des preuves scientifiques, sur des méthodes rigoureuses et sur des données probantes générées par des évaluations terrains.

L'évaluation des technologies de la santé (ETS) est un champ de recherche appliquée et interdisciplinaire. L'ETS examine les dimensions cliniques, économiques, éthiques, juridiques et sociales de l'introduction, de l'utilisation et de la diffusion des technologies et des modes d'intervention en santé.

La promotion de l'ETS, le transfert des connaissances, la formation ainsi que le rayonnement de l'expertise de l'unité sont également au cœur de sa mission.

## **LE COMITÉ DIRECTEUR**

Dr Isabelle Amyot, directrice des affaires médicales et universitaires, CHU Sainte-Justine  
Dr Renaldo Battista, conseiller principal, UETMIS, CHU Sainte-Justine  
Jean-François Bussières, chef de la pharmacie, CHU Sainte-Justine  
Renée Descôteaux, directrice des soins infirmiers, CHU Sainte-Justine  
Dr Alicia Framarin, représentante scientifique de l'AETMIS  
Dr Philippe Jovet, représentant de l'Unité de recherche clinique appliquée, CHU Sainte-Justine  
Dr Jacques Lacroix, responsable médical de l'UETMIS, CHU Sainte-Justine  
Dr Chantale Lapierre, médecin représentant du CMDP, CHU Sainte-Justine  
Johanne Samson, coordonnatrice de l'UETMIS, CHU Sainte-Justine

## **DIVULGATION DE CONFLITS D'INTÉRÊTS**

Aucun conflit à rapporter

## TABLE DES MATIÈRES

|  |    |
|--|----|
| ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES.....   | iv |
| REMERCIEMENTS.....   | v  |
| L'AVIS EN BREF.....  | vi |
| 1. INTRODUCTION.....   | 1  |
| 2. CONTEXTE DE L'ÉVALUATION .....  | 2  |
| 2.1 Question d'évaluation.....   | 2  |
| 2.2 Objectif de l'évaluation.....  | 3  |
| 2.3 Comité d'évaluation .....  | 3  |
| 3. MÉTHODES D'ÉVALUATION.....  | 3  |
| 3.1 Revue de marché .....  | 3  |
| 3.2 Stratégie de recherche de données .....  | 3  |
| 3.3 Critères d'évaluation de l'automate Tissue-Tek <sup>®</sup> Xpress <sup>®</sup> x120 ..... | 5  |
| 3.3.1 Caractéristiques technologiques.....   | 5  |
| 3.3.2 Performances techniques .....  | 6  |
| 3.3.2.1 Protocole pour l'automate Tissue-Tek <sup>®</sup> VIP 5 <sup>®</sup> .....             | 6  |
| 3.3.2.2 Protocole pour l'automate Tissue-Tek <sup>®</sup> Xpress <sup>®</sup> x120 .....       | 6  |
| 3.3.3 Validation technique.....  | 6  |
| 3.3.4 Impacts organisationnels et environnementaux .....                                       | 7  |
| 4. RÉSULTATS DE L'ÉVALUATION DU TISSUE-TEK <sup>®</sup> XPRESS <sup>®</sup> .....              | 7  |
| 4.1 Évaluation des caractéristiques techniques.....  | 7  |
| 4.1.1 Avantages .....  | 7  |
| 4.1.2 Inconvénients .....  | 7  |
| 4.2 Évaluation des performances techniques et diagnostiques.....                               | 8  |
| 4.2.1 Avantages .....  | 8  |
| 4.2.2 Inconvénients .....  | 8  |
| 4.2.3 Quelques données de la littérature sur les substituts au formol .....                    | 9  |
| 4.3 Évaluation des impacts organisationnels.....   | 10 |
| 4.4 Évaluation de l'impact environnemental.....  | 11 |
| 5. CONCLUSION .....  | 11 |
| 6. DIFFÉRENTS ENJEUX.....  | 11 |
| <b>ANNEXE A</b> Détails des coûts afférents .....  | 14 |
| <b>ANNEXE B</b> Formol et produits de substitution.....  | 18 |
| <b>ANNEXE C</b> Montage, inclusion et microtomie.....  | 19 |
| <b>ANNEXE D</b> Évaluation microscopique.....  | 20 |
| <b>ANNEXE E</b> Fixation – Circulation – Coloration – IF – IHC .....                           | 21 |
| <b>ANNEXE F</b> Analyses moléculaires.....   | 23 |
| BIBLIOGRAPHIE.....   | 24 |

## LISTE DES TABLEAUX

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Tableau 1</b> | Caractéristiques des automates à imprégnation des tissus .....    | 4  |
| <b>Tableau 2</b> | Grille d'évaluation pour automate à imprégnation des tissus ..... | 13 |

## ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

|               |   |
|---------------|---|
| <b>ADN</b>    | Acide désoxyribonucléique   |
| <b>ARN</b>    | Acide ribonucléique   |
| <b>AETMIS</b> | Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé |
| <b>CMDP</b>   | Conseil des médecins, dentistes et pharmaciens                            |
| <b>CHU</b>    | Centre hospitalier universitaire  |
| <b>ETS</b>    | Évaluation des technologies de la santé                                   |
| <b>HPS</b>    | Hématoxyline phloxine safran  |
| <b>IF</b>     | Immunofluorescence  |
| <b>IHC</b>    | Immuno-histochimie  |
| <b>IRIC</b>   | Institut de recherche en immunologie et en cancérologie                   |
| <b>NHS</b>    | <i>National Health Service - England</i>                                  |
| <b>OCT</b>    | <i>Optimal cutting temperature</i>  |
| <b>OMS</b>    | Organisation mondiale de la santé   |
| <b>PAS</b>    | <i>Periodic acid schiff</i>   |
| <b>UETMIS</b> | Unité d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé  |
| <b>USB</b>    | <i>Universal Serial Bus</i>   |

## **REMERCIEMENTS**

Cette évaluation a été effectuée à la demande de la direction générale du CHU Sainte-Justine et du département de pathologie. Elle a été rendue possible grâce à la collaboration de chacun des membres du comité et des professionnels de santé participants.

## **COMITÉ D'ÉVALUATION**

Johanne Samson, coordonnatrice de l'UETMIS  
Nina N'Diaye, attachée de recherche à l'UETMIS

## **PROFESSIONNELS IMPLIQUÉS DANS LE PROCESSUS D'ÉVALUATION**

Mario Farly, chef de service administratif du département de pathologie  
Dr Natalie Patey, pathologiste  
Claude Potvin, coordonnatrice technique, département de pathologie

## **RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE**

Nina N'Diaye, attachée de recherche à l'UETMIS

L'UETMIS tient à remercier les lecteurs externes qui ont permis d'améliorer la qualité de ce rapport.

## L'AVIS EN BREF

L'histopathologie est la discipline médicale dédiée à l'étude macroscopique et microscopique des tissus, vivants ou morts, pour fins de diagnostic. C'est un fait évident que le diagnostic posé par un pathologiste représente un acte extrêmement important en termes de qualité des soins car c'est sur cette base que le clinicien oriente sa décision thérapeutique, choix parfois lourd de conséquences pour le patient, sa famille et la collectivité.

Une innovation technologique majeure a permis de modifier considérablement le processus histopathologique. En effet, l'introduction récente d'automates rapides dédiés à l'imprégnation des tissus a entraîné une réduction spectaculaire des délais dans l'obtention des résultats ainsi qu'une plus grande efficacité des procédures de travail. Les bénéfices anticipés par l'utilisation des automates en pathologie apparaissent multiples.

Dans un souci d'amélioration des procédures de travail et afin d'éliminer l'utilisation du formol, les gestionnaires du département de pathologie du CHU Sainte-Justine désirent acquérir un automate à imprégnation des tissus. De plus, le département qui possède déjà un automate à imprégnation aimerait augmenter sa capacité d'enrobage des tissus afin d'éliminer à terme les blocs de congélation qui nécessitent un support logistique important pour leur conservation (espace climatisé et congélateurs).

L'UETMIS a eu pour mandat d'accompagner l'équipe de pathologie dans le processus d'évaluation des différents appareils offerts sur le marché. Pour ce faire, nous avons élaboré des outils d'évaluation des différentes caractéristiques de ce type d'appareil et dégagé les enjeux à considérer lors de l'évaluation d'un automate à imprégnation. Nous avons fait l'exercice d'évaluation pour un automate à imprégnation soit le Tissue-Tek® Xpress® x120.

Ainsi, ce rapport présente les résultats de l'évaluation d'un automate. Il pourra servir de modèle lors de l'évaluation de tout autre type d'automate à imprégnation de tissus.

De façon générale, lors de l'évaluation d'un automate à imprégnation, différents enjeux doivent être considérés :

### Enjeux technologiques

Il est important qu'un automate à imprégnation de tissus soit **facile d'utilisation**, tant pour le chargement, le monitoring, les différentes étapes du processus et l'entretien que pour la reconfiguration et l'interfaçage. L'appareil doit permettre la **rapidité d'exécution**, un flux de travail en continu et offrir la possibilité de traiter des échantillons en urgence.

L'appareil doit offrir une **grande flexibilité** quant au traitement des tissus selon leur épaisseur afin de répondre aux exigences les plus strictes en matière de préparation et de standardisation des différentes étapes de traitement des spécimens. Il faut également que chaque étape du cycle de traitement (temps d'imprégnation, chaleur, pression/vide

alternatif et agitation) puisse être modifiée individuellement afin d'optimiser les résultats selon le type de tissu.

La **fiabilité** de la technologie doit être évaluée finement afin de s'assurer de la précision et de la reproductivité des différentes étapes du processus (imprégnation, contrôle de la température, etc.)

### **Enjeux techniques**

Les enjeux techniques concernent la **performance** tant **technique** que **diagnostique**. La qualité de l'inclusion, de la coupe et du bloc doit être excellente. La qualité des analyses par coloration et des analyses moléculaires doit être optimale.

### **Enjeux organisationnels**

L'introduction d'une nouvelle technologie nécessite une **revue des processus** menant à des mises au point appropriées notamment quant à la compatibilité du débit de travail avec les autres postes de travail. De plus, tout changement technologique doit être associé à une **formation** adéquate du personnel. Finalement, la possibilité de fonctionnement de l'automate durant la nuit doit être considérée.

### **Enjeux environnementaux**

En termes d'enjeux environnementaux, l'élimination du formol est une préoccupation majeure. Reste à évaluer l'ampleur du volume des déchets et la possibilité de recycler les réactifs.

### **Enjeux économiques**

Outre le **coût d'acquisition** de l'appareil, les **coûts afférents** sont loin d'être négligeables. En premier lieu, il faut considérer les coûts d'installation et de mise aux normes de l'espace d'accueil. Il faut également considérer les coûts des réactifs et des consommables souvent fournis par la compagnie. Ainsi, la diversité des fournisseurs doit être évaluée afin d'éviter le piège des prix non compétitifs. Les coûts de l'entretien et de la garantie (contrat de service) doivent être négociés, car ils sont souvent très élevés.

La technologie choisie aura des impacts non négligeables sur les accessoires nécessaires au fonctionnement. Ainsi, la compatibilité des cassettes utilisées variera selon la technologie choisie (ex. micro-ondes) et des coûts importants viennent s'ajouter.

L'investissement en temps et en ressources humaines doit également être chiffré parce qu'il représente des coûts cachés souvent négligés.

Les coûts liés à l'élimination des déchets et au recyclage de certains produits doivent être considérés.

### **Évaluation de l'automate Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120**

A la lumière des données recueillies, il apparaît que les investissements financiers et logistiques ainsi que les impacts diagnostiques et organisationnels outrepassent largement les bénéfices opérationnels et techniques anticipées par l'acquisition de cet automate par le département de pathologie.

La somme engagée dans l'achat du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 (170 000 \$) permettrait



d'acquérir **un autre automate Tissue-Tek® VIP® 5** ainsi qu'un **automate d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ*** sans pour autant bouleverser l'organisation du travail et les modes opératoires du laboratoire. **La capacité de traitement des échantillons du département de pathologie s'en trouverait considérablement accrue** et mènerait, en conséquence, à une diminution du temps de réponse de la part des pathologistes. **Cette option ne permet cependant pas d'éliminer l'utilisation du formol.**

## 1. INTRODUCTION

L'histopathologie est la discipline médicale dédiée à l'étude macroscopique et microscopique des tissus, vivants ou morts, pour fins de diagnostic. C'est un fait évident que le diagnostic posé par un pathologiste représente un acte extrêmement important en termes de qualité des soins, car c'est sur cette base que le clinicien oriente sa décision thérapeutique, choix parfois lourd de conséquences pour le patient, sa famille et la collectivité.

Ces examens sont effectués sur tout prélèvement tissulaire et constituent la base du diagnostic de cancer. Il faut savoir que toutes les pièces chirurgicales et biopsies prélevées à l'hôpital doivent être analysées par un pathologiste du département de pathologie. Pour ce faire, les tissus sont traditionnellement fixés dans le formol, aussi appelé formaline, puis enrobés dans des blocs de paraffine pour fins de conservation. Des analyses sont ensuite effectuées sur de fines tranches de quelques microns d'épaisseur qu'il s'agisse d'études histologiques (coloration des tissus), immuno-histochimiques (localisation de protéines au moyen d'anticorps) ou de microscopie électronique (analyse des structures cellulaires).

Des analyses moléculaires (étude des anomalies du génome) sont également effectuées sur des pièces congelées, matériel plus adéquat que les tissus fixés. Introduites récemment, les techniques de biologie moléculaire font maintenant partie intégrante de la routine des analyses effectuées au département d'histopathologie. Elles permettent d'affiner les diagnostics, d'établir des pronostics et de mieux orienter les cliniciens quant au choix du traitement le plus approprié pour le patient.

La satisfaction des besoins en services de diagnostic histopathologique apparaît donc essentielle au processus de prestation des soins de santé. Le contexte actuel de pénurie de personnel qualifié, associée à une logique de regroupement des laboratoires en raison de pressions financières élevées, obligent à une profonde réorganisation du travail afin de répondre aux exigences d'efficience et de qualité établies par les autorités sanitaires.

Une innovation technologique majeure a permis de modifier considérablement le processus histopathologique. En effet, l'introduction récente d'automates rapides dédiés à l'imprégnation des tissus a entraîné une réduction spectaculaire des délais dans l'obtention des résultats ainsi qu'une plus grande efficacité des procédures de travail.

Les bénéfices anticipés par l'utilisation d'un automate à imprégnation de tissus sont multiples et relèvent de plusieurs enjeux. Ces enjeux sont d'ordre

### **Cliniques :**

- rapidité et fiabilité du résultat diagnostique ou pronostique,
- meilleure prise en charge du patient;

### **Organisationnels :**

- meilleure répartition de la charge de travail,

- amélioration de la performance du laboratoire (meilleurs temps pour l'obtention de résultats demandés en urgence, accroissement du débit de travail),
- diminution des besoins en main d'oeuvre (orientation vers d'autres tâches),
- diminution des espaces alloués à la congélation des spécimens frais;

#### **Techniques :**

- standardisation des procédures d'échantillonnage, de fixation et d'enrobage des tissus,
- fixation des tissus sans formol,
- développement des analyses moléculaires sur des tissus fixés mais non formolés,
- diminution du temps d'exécution de certaines étapes de la technique (temps d'incubation plus courts),
- diminution du recours aux spécimens congelés;

#### **Environnementaux :**

- amélioration de l'environnement de travail pour le personnel (suppression des goulots d'étranglement),
- possibilité d'élimination du risque associé au formol ou à d'autres produits toxiques (toluène, xylène, etc.),
- amélioration de la sécurité du laboratoire (l'extraction des acides nucléiques permettant de diminuer le risque infectieux).

## **2. CONTEXTE DE L'ÉVALUATION**

Dans un souci d'**amélioration des procédures** de travail et afin d'**éliminer l'utilisation du formol**, les gestionnaires du département de pathologie du CHU Sainte-Justine désirent acquérir un automate à imprégnation des tissus. De plus, le département qui possède déjà un automate à imprégnation (Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup>5) aimerait **augmenter sa capacité d'enrobage** des tissus afin d'**éliminer** à terme les **blocs de congélation** qui nécessitent un support logistique important pour leur conservation (espace climatisé et congélateurs).

La direction générale de notre établissement demande que toute planification d'achat soit validée par une étape d'évaluation. L'UETMIS a pour mandat d'accompagner l'équipe de pathologie dans le processus d'évaluation des différents appareils offerts sur le marché. Pour ce faire, chaque automate doit être soumis à une grille d'évaluation des caractéristiques techniques élaborée par l'UETMIS. L'analyse de la performance technique des appareils potentiellement retenus et de leur impact clinique doit également être effectuée sous l'égide d'un pathologiste. Le rapport présente les résultats de l'évaluation de l'automate **Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120**. Il pourra servir de modèle lors de l'évaluation de tout autre type d'automate à imprégnation.

### **2.1 Question d'évaluation**

Quels sont les bénéfices et les inconvénients liés à l'introduction d'un automate à imprégnation des tissus dans le département de pathologie du CHU Sainte-Justine ?

## 2.2 Objectif de l'évaluation

Dégager les enjeux technologiques, techniques, organisationnels, environnementaux et économiques lors de l'introduction d'un automate à imprégnation des tissus dans le département de pathologie du CHU Sainte-Justine.

## 2.3 Comité d'évaluation

Pour répondre à ces questions et afin d'assurer une démarche participative de tous les acteurs, un comité d'évaluation composé des membres de l'UETMIS et des professionnels du département de pathologie a été formé. Ce comité s'est réuni tout au long du processus d'évaluation.

## 3. MÉTHODES D'ÉVALUATION

### 3.1 Revue de marché

Il existe quatre automates de dernière génération actuellement sur le marché qui sont principalement utilisés en Amérique du Nord et en Europe : le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120, le PATHOS Delta<sup>®</sup>, le STP 420D<sup>®</sup> et le Peloris<sup>™</sup>.

Les modèles de dernière génération s'appuient sur différentes technologies. Le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> et le PATHOS Delta<sup>®</sup> sont tous deux munis de la technologie à micro-ondes tandis que le STP 420D<sup>®</sup> et le Peloris<sup>™</sup> utilisent respectivement le mouvement de rotation et l'agitation afin d'optimiser le processus d'imprégnation par la paraffine.

Les caractéristiques de ces appareils sont résumées au tableau 1. Ils présentent des débits de travail élevés allant de 120 à 450 cassettes par heure. Tous n'offrent pas la possibilité d'éliminer le formol des procédures de travail, ce qui constitue un inconvénient non négligeable étant donné le risque chimique associé à ce réactif. Ces risques sont présentés à l'annexe B. La description des coûts afférents à l'utilisation de ces instruments est présentée en détail à l'annexe A.

### 3.2 Stratégie de collecte de données

Tel que mentionné précédemment, les 4 principaux fournisseurs d'automates ont été sélectionnés. L'automate **Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120** de la compagnie Sakura a été **évalué dans le département de pathologie du CHU Sainte-Justine** sur une période de quinze jours (novembre 2009). Il est à noter que le département utilise en routine un automate à inclusion sous vide provenant de la même compagnie, le Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup>5.

Le PATHOS<sup>®</sup> de la compagnie Milestone est utilisé dans le laboratoire de l'Institut de recherche en immunologie et en oncologie (IRIC) de l'université de Montréal. Il s'agit de la génération précédant le PATHOS Delta. Les améliorations apportées concernent principalement l'interface et l'élimination des étapes de rinçage entre les cycles. Les trois autres automates, le STP 420D<sup>®</sup> de Thermo Scientific Fisher et le Peloris<sup>®</sup> de Leica, et le PATHOS Delta<sup>®</sup> pourront être évalués selon le modèle proposé dans le présent rapport.

**Tableau 1 : Caractéristiques des automates à imprégnation des tissus**

| Nom de l'automate                                       | Tissue-Tek <sup>®</sup> x120        | PATHOS Delta <sup>®</sup>           | STP 420D <sup>®</sup>           | Peloris <sup>™</sup>                |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Configuration (au sol, paillasse)</b>                | sol                                 | sol                                 | sol                             | sol                                 |
| <b>Taille : L*P*H (cm)</b>                              | 170 x 71 x 163                      | 68 x 68 x 152                       | 64 x 63 x 150                   | 86 x 72 x 150                       |
| <b>Poids vide/ chargé (kg)</b>                          | 460/490*                            | 250/320*                            | 200/300*                        | 250/350                             |
| <b>Technologie</b>                                      | micro-ondes (60W)+agitation         | micro-ondes + agitation             | rotation                        | agitation ( ActivFlo)               |
| <b>Traitement sans formol / sans xylène</b>             | sans formol, sans xylène            | sans formol, sans xylène            | sans xylène                     | sans xylène                         |
| <b>Rinçage de l'automate entre les cycles</b>           | non                                 | non                                 | oui                             | oui                                 |
| <b>Cuves</b>  |                                     |                                     |                                 |                                     |
| Station de chargement                                   | 1 station                           | 1 station                           | 1 station                       | 2 stations                          |
| Station de traitement                                   | 2 cuves micro-ondes                 | 1 cuve micro-ondes                  | 2 rotors                        | 2 rotors                            |
| Station de vide   | 2 cuves                             | 1 station                           | 2 stations                      | 2 stations                          |
| Station de déchargement                                 | 2 cuves                             | 1 station                           | —                               | —                                   |
| <b>Capacité</b>   |                                     |                                     |                                 |                                     |
| Chargement continu (CC) , par lots (CL)                 | CC, toutes les 20 min.              | CC, toutes les 30 ou 60 min.        | CL                              | CC ou CL                            |
| Débit   | jusqu'à 120 cassettes/hre           | jusqu'à 210 cassettes/hre           | jusqu'à 360 cassettes/lot       | jusqu'à 450 cassettes/hre           |
| Capacité de déchargement                                | jusqu'à 80 cassettes                | jusqu'à 210 cassettes               | jusqu'à 360 cassettes           | jusqu'à 300 cassettes               |
| <b>Temps de traitement (min) sans temps de fixation</b> | 70 (standard)/ 130(3mm d'épaisseur) | 30 (biopsie)/ 260 (5mm d'épaisseur) | 90 (3mm d'épaisseur)/ 265 (5mm) | 540 (4mm d'épaisseur) avec fixation |
| <b>Plages de température (°C)</b>                       |                                     |                                     |                                 |                                     |
| Station de traitement                                   | 51 ± 2                              | 50 ± 5                              | 50                              | 45 à 55                             |
| Station de vide   | 65 ± 2                              | N.D.                                | N.D.                            | N.D.                                |
| <b>Ordinateur requis</b>                                | fourni avec écran tactile           | fourni avec écran tactile           | fourni avec écran tactile       | fourni avec écran tactile           |
| <b>Temp. ambiante d'opération (°C)</b>                  | 15-35                               | N.D                                 | N.D                             | N.D                                 |
| <b>Humidité relative (%)</b>                            | 30-85                               | N.D                                 | N.D                             | N.D                                 |
| <b>Logiciel</b>   |                                     |                                     |                                 |                                     |
| Démarrage manuel (M), automatique (A)                   | M, A                                | M, A, programmable                  | M, A                            | M, A                                |
| Système de gestion des réactifs                         | oui                                 | oui                                 | oui                             | oui                                 |
| Comptage des cassettes ou des cycles                    | oui                                 | oui                                 | oui                             | oui                                 |
| <b>Installation électrique</b>                          | 200V; 20A; 60Hz                     | 115V; 60Hz                          | 115V; 60Hz                      | 120V; 16A; 60Hz                     |
| <b>Interface</b>  | port USB                            | non                                 | port USB                        | port USB                            |

\* Poids estimé de l'automate chargé de solutions ; N.D. : non déterminé

### 3.3 Critères d'évaluation de l'automate Tissue-Tek® Xpress® x120

#### 3.3.1 Caractéristiques technologiques

Lors du choix de la plateforme d'automatisation, plusieurs facteurs importants doivent être considérés dont deux principalement. Premièrement, outre le critère de performance technique, le **niveau de débit** requis est déterminant dans la sélection de l'appareil. Certains automates peuvent traiter jusqu'à 450 cassettes d'échantillons par heure. Les spécimens doivent ensuite être rapidement enrobés de paraffine. Cette opération est longue et fastidieuse si elle effectuée manuellement. Seule une station d'enrobage automatique permettrait d'absorber le flux d'échantillons issus de l'automate à imprégnation des tissus.

Deuxièmement, le **niveau de flexibilité** qu'offre l'appareil est un autre élément à considérer. Un automate capable de gérer un flux continu de tissus serait un atout; de même que sa capacité à traiter des tissus fixés aussi bien au formol qu'avec des produits de substitution selon des protocoles différents. Les critères d'évaluation suivants ont été utilisés :

- débit (échantillons /heure) et flux de travail (chargement en continu de l'automate),
- compatibilité du débit de travail avec les autres postes d'analyse,
- rapidité d'exécution,
- flexibilité du système vis-à-vis du traitement de tissus formolés ou non,
- fiabilité du système (précision et reproductibilité du processus d'imprégnation, contrôle de la température),
- possibilité de traiter des échantillons en urgence,
- fixateurs sans formol,
- traitement des tissus sans xylène,
- compatibilité des cassettes utilisées pour le traitement avec l'automate,
- facilité d'utilisation pour le chargement, le monitoring des étapes, la maintenance,
- besoins en espace,
- qualité du service à la clientèle,
- formation du personnel,
- disponibilité des pièces, des réactifs et consommables,
- facilité de reconfiguration et d'interfaçage,
- prix d'achat.

Lors de la sélection finale, les critères suivants ont été examinés :

- taille des tissus à traiter (épaisseur maximale),
- impact sur la réalisation des analyses subséquentes (nécessité d'optimisation),
- prix d'achat,
- coûts des réactifs et des consommables fournis par la compagnie,
- possibilité de recycler les réactifs,
- diversité des fournisseurs (monopole?),
- coût de la maintenance et de la garantie (contrat de service),
- coûts d'installation et de mise au norme de l'espace d'accueil.

### 3.3.2 Performances techniques et diagnostiques

Tout **procédé de fixation** des tissus destinés aux préparations histologiques comporte 3 étapes principales :

1. Le **tissu** est dans un premier temps **fixé** afin que ses structures moléculaires et morphologiques se maintiennent dans l'état dans lequel il a été prélevé.
2. Il est ensuite soumis à une **étape de déshydratation**.
3. Ce processus permet une infiltration optimale du tissu par la paraffine (**étape d'imprégnation**).

Puis le tissu est soumis à une **étape d'enrobage** afin de le solidifier et de permettre une coupe aussi fine que possible. Le tissu est ensuite coupé en fines sections, généralement au microtome; ces sections sont disposées sur des lames. Les préparations sont débarrassées du produit d'enrobage et réhydratées, avant le traitement histochimique ou l'étape ultime de coloration.

#### 3.3.2.1 Protocole pour l'automate Tissue-Tek® VIP®5

Le procédé implanté au département de pathologie du CHU Sainte-Justine utilise la technologie du Tissue-Tek® VIP®5, un **automate à inclusion sous vide**, permettant d'effectuer les différents types d'analyses courantes au laboratoire (analyses macroscopiques, microscopiques et immunohistochimiques notamment). Cette technologie emploie le **formol** pour fixer les tissus. Cependant, le formaldéhyde qu'il contient est un agent **carcinogène** très volatil reconnu par l'OMS (annexe B). La déshydratation s'effectue ensuite par étapes successives avec des **concentrations croissantes d'alcool** (éthanol 70%, 90% et éthanol absolu) afin de préserver la structure morphologique des tissus. S'ensuit une étape intermédiaire d'élimination de l'agent déshydratant par des solvants tels que le **toluène**, le **xylène** ou le **benzène**. Ceci n'est pas sans entraîner une certaine **dénaturation** des tissus ni sans poser des problèmes de **toxicité** dus à l'utilisation de ces solvants. L'étape finale d'infiltration sous vide nécessite l'utilisation de **paraffine** dont la température de fusion s'élève entre 58 et 60°C, ce qui a un **effet dénaturant** sur les tissus en cours de traitement. Globalement, le processus dure **16 heures** (temps de fixation inclus).

#### 3.3.2.2 Protocole pour l'automate Tissue-Tek® Xpress® x120

La fixation des tissus s'effectue avec une solution **sans formol** (fixateur moléculaire) qui a la propriété de **conserver les macromolécules** (ADN, ARN, protéines) des tissus à température ambiante. Le traitement ultérieur des échantillons ne nécessite que quatre types de **solutions exemptes de xylène**. Le procédé impliquant l'automate Tissue-Tek® Xpress® x120 est donc plus rapide. En effet, le processus complet dure entre **2,5 et 3,5 heures** (temps de fixation inclus) dépendamment de l'épaisseur du tissu. L'étape finale d'infiltration par la paraffine est identique à celle précédemment décrite.

### 3.3.3 Validation technique

Le protocole de validation technique consiste en la comparaison analytique d'échantillons provenant d'autopsie traités en parallèle avec les deux technologies. Les critères suivants ont été évalués : la **qualité de l'inclusion**, le maintien de l'**intégrité du bloc**, la **qualité de la coupe**, des analyses par **coloration** et par **immunohistochimie**

ainsi que des **analyses moléculaires** (annexes C à F).

### 3.3.4 Impacts organisationnels et environnementaux

Une collecte de données a été réalisée en novembre 2009 durant la période de formation donnée par la compagnie Sakura (durée de 2 semaines). Le suivi des différentes étapes s'est effectué durant la première semaine de formation par l'observation des technologistes à leurs postes de travail. Les commentaires des divers professionnels impliqués ont été recueillis au cours de cette période.

## 4. RESULTATS DE L'ÉVALUATION DU TISSUE-TEK<sup>®</sup> XPRESS<sup>®</sup> x120

### 4.1 Evaluation des caractéristiques technologiques

#### 4.1.1 Avantages

L'automate Tissue-Tek<sup>®</sup>Xpress<sup>®</sup> x120 présente les avantages suivants comparativement au Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup>5 :

- un débit élevé (120 échantillons /heure) et un flux de travail continu (chargement de 40 cassettes toutes les 20 minutes);
- une rapidité d'exécution (3,5 heures versus 16 heures avec l'automate VIP<sup>®</sup>5);
- l'élimination du formol. Le système est assez flexible pour traiter les tissus formolés ou non;
- la possibilité de traiter des échantillons en urgence, l'automate permettant un chargement toutes les 20 minutes;
- l'élimination du xylène;
- l'élimination des odeurs;
- la simplicité d'utilisation et la facilité de la maintenance de l'appareil;
- la traçabilité des opérations permet d'assurer un contrôle de qualité;
- la qualité du service à la clientèle et de la formation ;
- la possibilité d'interfaçage via le port USB;
- la disponibilité des réactifs et consommables;
- le faible niveau de déchets généré.

#### 4.1.2 Inconvénients

Quelques inconvénients demeurent néanmoins. Sur le **plan logistique**, l'introduction d'un tel automate exige un espace assez grand (voir tableau 1) ainsi qu'une mise aux normes notamment quant à la conformité du plancher afin de supporter le poids de l'appareil qui avoisine 500 kg et au rehaussement de l'alimentation électrique.

Sur le **plan financier**, il faut considérer certains coûts qui s'ajoutent au prix d'achat. Notamment, la maîtrise des coûts des réactifs et consommables est d'autant plus limitée que la diversité des fournisseurs est réduite. Il est à noter que les réactifs ne sont pas recyclables et doivent être régulièrement changés (par exemple, la solution de prétraitement – 500 ml – doit être changée à toutes les 3 heures ou après 100 cassettes). De plus, les paniers à cassettes doivent être lavés avant toute réutilisation. Le département de pathologie devrait donc prévoir un nombre suffisant de paniers afin



de couvrir les besoins quotidiens du laboratoire et de maintenir un débit de traitement élevé.

D'un **point de vue technique**, le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 n'offre que deux types de programme pour le traitement des tissus selon leur épaisseur (2 mm ou 3 mm). **Les pièces ayant plus de 3 mm d'épaisseur ne pourront pas être traitées adéquatement.** Il est donc nécessaire de grouper les échantillons par lots selon leur taille afin d'optimiser les phases de pré-traitement et de traitement. De plus, une mise au point de la durée du pré-traitement et du traitement est requise pour chaque type d'organe. Il ne peut donc y avoir de standardisation.

Le Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup> 5 offre une plus grande flexibilité avec ses 20 programmes d'utilisation définis par l'opérateur. Le logiciel de l'automate permet de sélectionner tous les paramètres de traitement, répondant ainsi aux exigences les plus strictes en matière de préparation des tissus. En effet, chaque étape du cycle de traitement (temps d'imprégnation, chaleur, pression/vide alternatif et agitation) peut être modifiée individuellement. Les résultats sont ainsi optimisés selon le type de tissu.

La technologie micro-ondes est incompatible avec le métal. Ainsi, il y aura une **incompatibilité des cassettes de métal** employées actuellement au département de pathologie. L'introduction du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 impliquerait nécessairement l'achat de cassettes compatibles avec la nouvelle technologie micro-ondes. C'est donc une dépense supplémentaire à considérer lors de la prise de décision finale. De plus, il arrive que des pièces à traiter contiennent des agrafes métalliques à peine visibles qui sont également incompatibles avec les micro-ondes.

Finalement, l'écriture sur les cassettes disparaît avec la solution utilisée en pré traitement. C'est un inconvénient qui pourrait toutefois être contourné.

## **4.2 Evaluation des performances techniques et diagnostiques**

### **4.2.1 Avantages**

Les utilisateurs ont relevé plusieurs avantages liés à l'utilisation du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120. Ainsi, la **coupe** des blocs s'avère être **facilitée** quels que soient le type de tissu considéré et l'épaisseur désirée. La coupe en ruban est également aisée. De plus, la **coloration** histologique HPS (hématoxyline-phloxine-safran) est **plus intense**, ce qui entraîne une diminution du temps de traitement des spécimens d'environ 40%. Ceci nécessite par conséquent une optimisation des procédures de coloration déjà établies au laboratoire.

Certains tissus durs nécessitent une étape de décalcification préalable au traitement de fixation. Cette opération allonge le temps de traitement des échantillons. **L'utilisation du fixateur moléculaire permet d'améliorer le rendement de décalcification** et ceci **dans un laps de temps plus court.**

### **4.2.2 Inconvénients**

**Les performances de l'automate sont cependant moins impressionnantes sur le plan diagnostique.** En effet, le **processus d'inclusion des tissus n'est pas optimal** pour tous les tissus testés, ce qui compromet grandement la précision et la qualité du diagnostic à poser, les structures morphologiques et moléculaires étant trop déshydratées.

Lors de l'archivage, les utilisateurs ont constaté une **rétraction de certains blocs de paraffine** due à une mauvaise imprégnation des tissus traités. Un processus de déshydratation s'est opéré *a posteriori*, éliminant l'eau résiduelle contenue dans les blocs de paraffine et altérant d'autant l'intégrité des spécimens concernés.

Par ailleurs, l'étape ultérieure de coloration nécessite une mise au point spécifique à chaque type de tissu. Les **colorations** sont en effet très **variables d'un type de tissu à un autre** rendant toute **standardisation difficile** (annexe E). **Or le laboratoire de pathologie envisage d'augmenter le nombre de colorations automatisées.**

En ce qui concerne les **colorations spéciales** telles que le PAS (*Periodic acid schiff*) et la coloration argentique, elles sont généralement **moins précises** (annexe E). Les résultats des analyses en **immunofluorescence** effectuées sur les spécimens traités avec le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 sont **négatifs** avec les réactifs et les concentrations habituels comparativement à ceux obtenus sur des spécimens traités avec le Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup> 5 (annexe E).

Les spécimens congelés en OCT (*Optimal Cutting Temperature*) constituent une source précieuse d'échantillons pour un laboratoire de pathologie, et ceci à double titre. Premièrement, les pièces cryopréservées permettent d'effectuer des analyses histologiques urgentes (moins de 15 minutes) en vue de fournir un diagnostic préliminaire aux médecins lorsque nécessaire. Ces pièces peuvent ensuite être fixées et enrobées de paraffine afin d'effectuer des analyses histologiques plus fines menant à un diagnostic définitif. Or, il a été constaté par l'équipe de pathologie qu'une **réaction chimique indésirable menant à la dénaturation du tissu traité** se produisait à l'étape de pré-traitement dans le fixateur moléculaire. **Les pièces extemporanées ne peuvent donc circuler dans le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 en présence de fixateur moléculaire.**

Deuxièmement, les pièces cryopréservées en OCT conviennent parfaitement aux analyses moléculaires, l'ultrastructure cellulaire ainsi que les acides nucléiques étant préservés. Elles doivent cependant être conservées à - 80°C. Le fixateur moléculaire permet une conservation des blocs de paraffine à température pièce. Cependant, **les tests moléculaires effectués sur des spécimens traités avec le fixateur moléculaire ne démontrent pas la supériorité de ce protocole par rapport à la procédure traditionnelle** (annexe F). En effet, la qualité et la quantité d'ADN extrait étaient équivalentes dans les deux cas, ne permettant pas d'analyse moléculaire.

#### **4.2.3 Quelques données de la littérature sur les substituts au formol**

Quelques expériences récentes ont mis en évidence plusieurs types de difficultés en fonction des substituts (Lamph & Bennit, 2009). **La diffusion tissulaire peut être inférieure à celle du formol**, ce qui entraîne un changement dans la prise en charge de la pièce opératoire. La fixation du tissu adipeux peut s'avérer difficile.

Il est probable que des **modifications des techniques de routine** soient à envisager en ce qui concerne les temps de déshydratation, la coupe et la coloration (souvent dans le sens d'une réduction majeure du temps). La présence d'acétone dans certains milieux de fixation constitue un obstacle à l'utilisation des automates d'inclusion de routine.

Des **temps d'adaptation** sont également à **prévoir pour l'immunohistochimie** avec une modification des protocoles de démasquage (Nadji, Nassiri, Vincek, Kanhoush, & Morales, 2005). Certains clones d'anticorps utilisés sur tissus formolés s'avèrent inefficaces sur les tissus fixés avec des substituts. Il faut enfin prévoir de contrôler et

valider les techniques d'immunohistochimie quantitatives. Selon le récent rapport du NHS (*National Health Service : England*) sur les fixateurs de substitution, les auteurs rapportent généralement une amélioration des extractions moléculaires à partir de tissus fixés avec les substituts par rapport au formol (Lamph & Bennit, 2009).

**Il ne semble donc pas y avoir de substitut universel au formol.** Le choix du fixateur sera donc déterminé par les applications ultérieures auxquelles les échantillons fixés sont destinés.

L'**évaluation des risques** liés à l'utilisation des substituts est aujourd'hui **difficile**. Le risque chimique est à étudier selon les fiches de données de sécurité de chaque produit. Le potentiel biocide des substituts est pratiquement inconnu avec très peu de données dans la littérature. (Cleary, Morales, Nadji, Nassiri, & Vincek, 2005).

Sur le plan économique, les substituts représentent un **surcoût important à l'achat**. Il y aura également lieu de prendre en compte le coût et l'amortissement des installations, comme celui de la gestion des déchets (Hofman, 2009).

### 4.3 Evaluation des impacts organisationnels

La capacité du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 à traiter rapidement des tissus en mode continu permet de fluidifier la charge de travail au cours de la journée en évitant les goulots d'étranglement. Pour ce faire, **les tissus imprégnés doivent être rapidement dirigés vers le poste d'enrobage afin de libérer le poste de déchargement** de l'automate. Il n'est d'ailleurs pas recommandé d'y laisser les tissus traités, la température étant maintenue à 65°C.

L'inclusion doit donc avoir lieu immédiatement après la fin du cycle de l'automate à imprégnation. Cela implique des changements importants sur le plan organisationnel, car il n'est plus possible de travailler par lots comme c'est le cas avec le Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP 5<sup>®</sup>. Deux options s'offrent alors au laboratoire : la solution à court terme serait qu'un(e) **technologiste soit entièrement dédié(e) à l'enrobage des tissus** afin d'absorber le flux généré par le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120; la solution à long terme serait d'équiper le laboratoire d'un **système d'enrobage automatisé**.

Un autre point d'importance à prendre en considération concerne les **changements** encourus **sur le plan opérationnel** suite à l'introduction du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120. En effet, tel que mentionné précédemment (sections 4.2.2 et 4.2.3), **les procédures opérationnelles du laboratoire doivent être à nouveau mises au point** selon le type de tissu traité et selon l'analyse histologique désirée (colorations HPS : hématoxyline-phloxine-safran, colorations spéciales, analyses immuno-histochimiques ou en immunofluorescence). Cela nécessite un **important investissement en temps et en ressources humaines** dont il faut tenir compte, car il déterminera l'efficacité du laboratoire à produire des résultats fiables en un laps de temps adéquat afin d'améliorer la prise en charge des patients.

Finalement, le dernier désavantage relevé par l'équipe de pathologie cible l'une des caractéristiques de l'automate. En effet, l'appareil n'offre **aucune option de programmation**. **Il ne peut donc s'effectuer de circulation pendant la nuit**, car la présence de l'opérateur est indispensable pour récupérer les spécimens à la fin du traitement. Le Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP 5<sup>®</sup> offre quant à lui la possibilité de choisir l'heure de début et de fin de la procédure. Les spécimens peuvent alors rester dans le bain de

paraffine en fin de processus à la différence du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 avec lequel les tissus sont exposés à l'air libre à une température élevée.

#### 4.4 Evaluation de l'impact environnemental

Le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 offre l'avantage non négligeable d'**éliminer l'utilisation du formol**. Il faudrait alors s'assurer de fournir la salle d'opération du CHU Sainte Justine en fixateur moléculaire afin que les pièces opératoires extemporanées soient conservées dans cette solution. Par ailleurs, le **volume de déchets** générés est considérablement **réduit** comparativement au Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup> 5. En revanche, l'utilisation optimale du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 requiert que l'appareil reste en fonction (position ON) 24/24 heures, l'étape de démarrage étant de 4,5 heures.

### 5. CONCLUSION

**A la lumière des données recueillies, il apparaît que les investissements financiers et logistiques ainsi que les impacts diagnostiques et organisationnels outrepassent largement les bénéfices opérationnels et techniques anticipés par l'acquisition de l'automate Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 par le département de pathologie.**

La somme engagée dans l'achat du Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120 (170 000 \$) permettrait d'acquérir **un autre automate Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup> 5** ainsi qu'un **automate d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ*** sans pour autant bouleverser l'organisation du travail et les modes opératoires du laboratoire. **La capacité de traitement des échantillons du département de pathologie s'en trouverait considérablement accrue** et mènerait, en conséquence, à une diminution du temps de réponse de la part des pathologistes. **Cette option ne permet cependant pas d'éliminer l'utilisation du formol.**

L'évaluation de l'automate PATHOS Delta<sup>®</sup>, le second choix envisagé par les pathologistes utilisant également la technologie à micro-ondes, devrait intégrer l'analyse des bénéfices et inconvénients relatifs à l'organisation du travail au sein du département de pathologie. La capacité à développer les analyses moléculaires devrait également être prise en compte. **La grille d'évaluation proposée par l'UETMIS** intégrant l'analyse des enjeux technologiques, techniques, organisationnels, environnementaux et économiques **pourra servir de cadre méthodologique pour toute autre évaluation d'appareil**. Cette grille d'évaluation est présentée au tableau 2.

### 6. DIFFÉRENTS ENJEUX

De façon générale, lors de l'évaluation d'un automate à imprégnation, différents enjeux doivent être considérés :

#### Enjeux technologiques

Il est important qu'un automate à imprégnation soit **facile d'utilisation**, tant pour le chargement, le monitoring des différentes étapes du processus et l'entretien que pour la reconfiguration et l'interfaçage. L'appareil doit permettre la **rapidité d'exécution**, un flux de travail en continu et offrir la possibilité de traiter des échantillons en urgence.

L'appareil doit offrir une **grande flexibilité** quant au traitement des tissus selon leur épaisseur afin de répondre aux exigences les plus strictes en matière de préparation et de standardisation des différentes étapes de traitement des spécimens. Il faut également que chaque étape du cycle de traitement (temps d'imprégnation, chaleur, pression/vide alternatif et agitation) puisse être modifiée individuellement afin d'optimiser les résultats selon le type de tissu.

La **fiabilité** de la technologie doit être évaluée finement afin de s'assurer de la précision et de la reproductivité des différentes étapes du processus (imprégnation, contrôle de la température, etc.)

### **Enjeux techniques**

Les enjeux techniques concernent la **performance** tant **technique** que **diagnostique**. La qualité de l'inclusion, de la coupe et du bloc doit être excellente. La qualité des analyses par coloration et des analyses moléculaires doit être optimale.

### **Enjeux organisationnels**

L'introduction d'une nouvelle technologie nécessite une **revue des processus** menant à des mises au point appropriées notamment quant à la compatibilité du débit de travail avec les autres postes de travail. De plus, tout changement technologique doit être associé à une **formation** adéquate du personnel. Finalement, la possibilité de fonctionnement de l'automate durant la nuit doit être considérée.

### **Enjeux environnementaux**

En termes d'enjeux environnementaux, l'élimination du formol est une préoccupation majeure. Reste à évaluer l'ampleur du volume des déchets et la possibilité de recycler les réactifs.

### **Enjeux économiques**

Outre le **coût d'acquisition** de l'appareil, les **coûts afférents** sont loin d'être négligeables. En premier lieu, il faut considérer les coûts d'installation et de mise aux normes de l'espace d'accueil. Il faut également considérer les coûts des réactifs et des consommables souvent fournis par la compagnie. Ainsi, la diversité des fournisseurs doit être évaluée afin d'éviter le piège des prix non compétitifs. Les coûts de l'entretien et de la garantie (contrat de service) doivent être négociés, car ils sont souvent très élevés.

La technologie choisie aura des impacts non négligeables sur les accessoires nécessaires au fonctionnement. Ainsi, la compatibilité des cassettes utilisées variera selon la technologie choisie (ex. micro-ondes) et des coûts importants viennent s'ajouter.

L'investissement en temps et en ressources humaines doit également être chiffré parce qu'il représente des coûts cachés souvent négligés.

Les coûts liés à l'élimination des déchets et au recyclage de certains produits doivent être considérés.

**Tableau 2 : Grille d'évaluation pour automate à imprégnation des tissus**

|  |   |
|--|---|
| <p><b>Évaluation technologique</b></p>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>facilité d'utilisation</b> pour le chargement, le monitoring des étapes et l'entretien</li> <li>▪ facilité de reconfiguration et d'interfaçage</li> <li>▪ rapidité d'exécution</li> <li>▪ débit (échantillons /heure) et flux de travail (chargement en continu de l'automate)</li> <li>▪ <b>flexibilité</b> du système vis-à-vis du traitement de tissus formolés ou non</li> <li>▪ possibilité de traiter des échantillons en urgence</li> <li>▪ taille des tissus à traiter (épaisseur maximale)</li> <li>▪ <b>fiabilité</b> du système (précision et reproductibilité du processus d'imprégnation, contrôle de la température)</li> <li>▪ fixateurs sans formol</li> <li>▪ traitement des tissus sans xylène</li> <li>▪ disponibilité des pièces, des réactifs et consommables</li> </ul> |
| <p><b>Évaluation technique</b></p>         | <p><b>Performance technique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ qualité de l'inclusion</li> <li>▪ qualité de la coupe</li> <li>▪ maintien de l'intégrité du bloc</li> </ul> <p><b>Performance diagnostique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ qualité des analyses par coloration et par immuno-histochimie</li> <li>▪ qualité des analyses moléculaires</li> </ul>  |
| <p><b>Évaluation organisationnelle</b></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ compatibilité du débit de travail avec les autres postes d'analyse</li> <li>▪ mise au point nécessaire des différents protocoles</li> <li>▪ formation du personnel</li> <li>▪ possibilité de circulation pendant la nuit</li> </ul>  |
| <p><b>Évaluation environnementale</b></p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ possibilité d'élimination du formol</li> <li>▪ possibilité de recycler les réactifs</li> <li>▪ volume des déchets</li> <li>▪ consommation énergétique</li> </ul>   |
| <p><b>Évaluation économique</b></p>        | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ coût d'acquisition de l'appareil</li> <li>▪ coût d'installation et de mise aux normes de l'espace d'accueil</li> <li>▪ coût des réactifs et des consommables fournis par la compagnie</li> <li>▪ coût de l'entretien et de la garantie (contrat de service)</li> <li>▪ coût des accessoires (compatibilité des cassettes utilisées pour le traitement avec l'automate)</li> <li>▪ coût en ressources humaines (investissement en temps)</li> <li>▪ coût engendré par l'élimination des déchets et le recyclage</li> </ul>  |

## ANNEXE A : DÉTAILS DES COÛTS AFFÉRENTS

### Tissue-Tek® Xpress® x120

Manufacturier : Sakura

- Système fermé minimisant l'exposition aux composés chimiques
- 1 station de chargement, 4 cuves de traitement et 2 stations de déchargement
- Chargement en continu jusqu'à 120 cassettes/heure
- Application uniforme et sans fluctuation d'un flux de micro-ondes de faible énergie
- Compatible avec
  - la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine
  - les colorations spéciales
  - l'immunohistochimie
  - l'hybridation *in situ*
- Réactifs sans formol ni xylène
- Compatible avec les tissus fixés au formol
- Pas de rinçage entre les cycles



|   |   |
|---|---|
| <b>Prix de l'automate</b>               | 170 000\$                               |
| <b>Garantie</b>                         |   |
| <b>Formation</b>                        | 2 semaines                              |
| <b>Soutien technique</b>                | Téléphonique (en anglais) 8 heures/jour |
| <b>Mise à jour du logiciel</b>          |   |
| <b>Coût des consommable et réactifs</b> | Selon le volume de spécimens traités    |
| <b>Coût du contrat de service</b>       | Négociable                              |
| <b>Rappels de sécurité</b>              | Aucun connu                             |
| <b>Coût estimé/ spécimen</b>            |   |
| <b>Nombre d'automates au Québec</b>     | 1 (non utilisé)                         |

## PATHOS Delta®

Manufacturier : Milestone

- Système fermé avec 1 station de traitement
- Flux de travail flexible jusqu' à 210 cassettes/heure
- Spécimens de 1 à 7 mm d'épaisseur
- Biopsies urgentes
- Compatible avec tout format de cassette
- Réactifs sans xylène, ni formol
- Compatible avec tout type de réactifs
- Paraffine réutilisable
- Pas de rinçage entre les cycles



|   |   |
|---|---|
| <b>Prix de l'automate</b>               | Négociable selon le volume prévu d'utilisation                            |
| <b>Garantie</b>                         |   |
| <b>Formation</b>                        |   |
| <b>Soutient technique</b>               |   |
| <b>Mise à jour du logiciel</b>          |   |
| <b>Coût des consommable et réactifs</b> | Selon le volume de spécimens traités<br>Choix de distributeurs non limité |
| <b>Coût du contrat de service</b>       | Négociable  |
| <b>Rappels de sécurité</b>              | Aucun connu   |
| <b>Coût estimé/ spécimen</b>            |   |
| <b>Nombre d'automates au Québec</b>     |   |



## STP 420D®

Manufacturier : Thermo Scientific Fisher

- Mouvement de rotation permettant un échange de fluide optimal
- Système fermé avec 2 stations de traitement
- Flux de travail flexible jusqu' à 360 cassettes/cycle
- Spécimens de 1 à 5 mm d'épaisseur
- Biopsies urgentes
- Traitement sans xylène
- Compatible avec les réactifs traditionnels
- Compatible avec
  - la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine
  - les colorations spéciales
  - l'immunohistochimie
  - le FISH
- Rinçage entre les cycles



|   |   |
|---|---|
| <b>Prix de l'automate</b>               | 104 000 \$  |
| <b>Garantie</b>                         |   |
| <b>Formation</b>                        |   |
| <b>Soutien technique</b>                | À distance via un modem   |
| <b>Mise à jour du logiciel</b>          |   |
| <b>Coût des consommable et réactifs</b> | Selon le volume de spécimens traités  |
| <b>Coût du contrat de service</b>       | Négociable  |
| <b>Rappels de sécurité</b>              | Risque de fragmentation des spécimens<br>Arrêt prématuré de la chambre de centrifugation<br>(note de juin 2009) |
| <b>Coût estimé/ spécimen</b>            |   |
| <b>Nombre d'automates au Québec</b>     |   |

## Peloris™

Manufacturier : Leica Microsystems

- Mouvement d'agitation (système ActivFlo) permettant un échange de fluide optimal
- Système fermé avec 2 stations de traitement
- Flux de travail flexible jusqu'à 450 cassettes/heure
- Spécimens de 1 à 5 mm d'épaisseur
- Biopsies urgentes
- Traitement sans xylène
- Compatible avec les réactifs traditionnels
- Compatible avec
  - la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine
  - les colorations spéciales
  - l'immunohistochimie
- Rinçage entre les cycles



|   |  |
|---|--|
| <b>Prix de l'automate</b>               | 134 000 \$                                   |
| <b>Garantie</b>                         |  |
| <b>Formation</b>                        |  |
| <b>Soutien technique</b>                | Monitoring à distance possible; téléphonique |
| <b>Mise à jour du logiciel</b>          |  |
| <b>Coût des consommable et réactifs</b> | Selon le volume de spécimens traités         |
| <b>Coût du contrat de service</b>       | Négociable                                   |
| <b>Rappels de sécurité</b>              | Aucun connu                                  |
| <b>Coût estimé/ spécimen</b>            |  |
| <b>Nombre d'automates au Québec</b>     |  |

## **ANNEXE B : FORMOL ET PRODUITS DE SUBSTITUTION**

### **Les fixateurs**

Les fixateurs sont utilisés pour conserver les spécimens de tissus biologiques dans un état morphologique proche de celui observé *in vivo* afin d'assurer des analyses histologiques de qualité, exemptes d'artéfacts dus à la dégradation des tissus traités.

Le formol est actuellement le composé chimique le plus utilisé en Amérique du Nord pour fixer les tissus. Cependant, le formaldéhyde qu'il contient est hautement toxique (agent carcinogène) et de surcroît volatil. Il existe des alternatives à l'utilisation du formol avec notamment l'arrivée sur le marché de fixateurs moins toxiques avec ou sans composé aldéhydique (Hofman, 2009). Ces substituts peuvent contenir de l'alcool ou non. Les solutions alcooliques présentent l'avantage de permettre une précipitation des protéines tout en conservant leur structure secondaire contrairement aux solutions sans alcool (Lamph & Bennit, 2009).

### **Champs d'utilisation**

Les pièces chirurgicales pour fins de diagnostic doivent être traitées rapidement afin de prévenir la dégradation des tissus. Pour ce faire, les pièces sont conservées dans une solution de fixateur et transportées au laboratoire de pathologie.

Compte tenu du caractère volatil et rémanent du formol, toutes les opérations de manipulation du formol doivent être identifiées et réalisées de façon sécuritaire. Elles concernent la fixation des tissus, le transport des prélèvements, leur réception et enregistrement, la macroscopie, la mise en cassettes des échantillons, l'entretien des automates à inclusion, le conditionnement et l'élimination des déchets formolés.

### **Alternatives au formol**

Dans certains pays (comme la France), la substitution du formol est une obligation légale. Plusieurs substituts sont aujourd'hui disponibles sur le marché nord-américain (Excell+, Finefix, Glyo-Fixx, RCL2, UMFix, Molecular Fixative ...). Il s'agit essentiellement de fixateurs alcooliques peu toxiques mais néanmoins inflammables.

Les caractéristiques d'un substitut peuvent se résumer comme suit : conservation des caractéristiques morphologiques et antigéniques des tissus, résultats reproductibles, stabilité des caractéristiques tissulaires pendant plus de 10 ans, potentiel biocide équivalent à celui du formol, risque chimique faible ou nul pour les utilisateurs, compatibilité avec le fonctionnement des automates d'inclusion conventionnels.

Si le département de pathologie du CHU Sainte-Justine décide d'éliminer le formol, il devrait fournir la solution de substitut choisie au bloc opératoire de l'hôpital. Seules les pièces chirurgicales provenant d'autres institutions seraient encore fixées dans le formol.

## ANNEXE C : MONTAGE, INCLUSION ET MICROTOMIE

Date : \_\_\_\_\_

Page 1 de 1

Unité : Département de pathologie CHU Sainte-Justine

\*Évaluation : 1 (médiocre); 2 (douteux); 3 (acceptable); 4 (bon); 5 (excellent)

| Montage |                     |                       | Inclusion                           |  |                                  | Coupe   |                        |                  |  | Remarques |
|---------|---------------------|-----------------------|-------------------------------------|--|----------------------------------|---|------------------------|------------------|--|-----------|
| n° Bloc | Type de prélèvement | Monté à < 2 mm<br>O/N | Le tissu semble bien traité?<br>O/N | Infiltration de paraffine adéquate?<br>O/N | Inclusion à plat possible<br>O/N | Coupes de sections complètes possibles<br>O/N | Rubans obtenus?<br>O/N | Nbre de platines | *Évaluer la qualité des coupes<br>1 (médiocre) à 5 (excellent) |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |
|         |                     |                       |                                     |  |                                  |   |                        |                  | 1 2 3 4 5  |           |

Remarques générales :

---



---



---



---



---



---



---

## ANNEXE D : ÉVALUATION MICROSCOPIQUE

Date : \_\_\_\_\_

Page 1 de 1

Unité : Département de pathologie CHU Sainte-Justine

\*Évaluation : 1 (médiocre); 2 (douteux); 3 (acceptable); 4 (bon); 5 (excellent)

| Platine n° | Artefacts? | Préservation adéquate? | Coloration uniforme? | Détail cellulaire acceptable? | Cette platine vous permet-elle d'établir un diagnostic? | *Évaluer la qualité des platines 1 à 5 | Remarques |
|------------|------------|------------------------|----------------------|-------------------------------|---|--|-----------|
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |
|            | O N        | O N                    | O N                  | O N                           | O N   | 1 2 3 4 5                              |           |

Remarques générales :

---



---



---



---



---



---



---



---

## Fixation - Circulation

| # Cas      | Nombre de cassettes | Épaisseur de coupe | Type de fixateur          | Temps dans le fixateur | Durée de pré-traitement   | Décalcification | Remarques lors du grossing            | Circulation Standard ou Etendue | Odeur | Inclusion à plat possible? |
|------------|---------------------|--------------------|---------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------|-------|----------------------------|
| CH-09-9592 | 2                   |                    | OC T+Fixateur moléculaire | Fin de semaine         | 30 min                    | —               | Précipitation formation d'un complexe | standard                        | Non   | Oui                        |
| CH-09-9847 | 1                   | 3mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 5 min                     | —               | —                                     | standard                        | Non   | Oui                        |
| CH-09-8812 | 2                   | 2mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 30 min                    | —               | —                                     | standard                        | Oui   | Oui                        |
| CH-09-8810 | 2                   | 2mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 30 min                    | —               | —                                     | standard                        | Oui   | Oui                        |
| CH-09-8809 | 3                   | 2mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 30 min                    | —               | —                                     | standard                        | Oui   | Oui                        |
| AC-09-376  | A07à A16            | 2mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 30 min                    | —               | —                                     | standard                        | Non   | Oui                        |
| CH-09-8912 | 2                   | 2mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 30 min                    | —               | —                                     | standard                        | Non   | Oui                        |
| CH-09-377  | 3                   | 2mm                | Fixateur moléculaire      | 24 hres                | 15 min<br>30min<br>45 min | —               | —                                     | standard                        | Non   | Oui                        |

## Coupe – Coloration – IF\* – IHC\*\*

| # Cas      | Épaisseur de coupe au microtome | Remarques  | Coupe complète ? | Ruban ? | Nombre de lames | Coloration HPS (1 à 5) | Coloration spéciale (1 à 5)     |                     |                     | IF ?                            | IHC ? |
|------------|---------------------------------|--|------------------|---------|-----------------|------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------------|-------|
| CH-09-9592 | < 2µm                           | Congélation;<br>Précipitation<br>formation d'un complexe | Oui              | Oui     | 2               | —                      | —                               |                     |                     | —                               | —     |
| CH-09-9847 | < 2µm                           | Rein   | Oui              | Oui     | 10              | 3                      | PAS : 2<br>PASM : 2<br>TMAS : 3 |                     |                     | IgA négatif                     | —     |
| CH-09-8812 | 3µm                             | AA   | Oui              | Oui     | 2               | 4 mais friable         | —                               |                     |                     | —                               | —     |
| CH-09-8810 | 3µm                             | Her  | Oui              | Oui     | 2               | 4                      | —                               |                     |                     | Analyse en biologie moléculaire |       |
| CH-09-8809 | 3µm                             | AA   | Oui              | Oui     | 2               | 4                      | —                               |                     |                     | Analyse en biologie moléculaire |       |
| AC-09-376  | 3µm                             | Foie, rate (autopsie);<br>Bloc se rétracte avec le temps | Oui              | Oui     | 16              | 3-4 (VIP 4-5)          |                                 |                     |                     |                                 | —     |
| CH-09-8912 | 3µm                             | Thymus   |                  |         |                 |                        |                                 |                     |                     |                                 | —     |
| CH-09-377  | 3µm                             | Pré-traitement<br>15 min<br>30min<br>45 min              | Oui              | Oui     | 9               | 2<br>2<br>2            | PAS<br>4<br>4<br>4              | PASM<br>1<br>1<br>1 | TMAS<br>3<br>2<br>3 |                                 | —     |

\* : immunofluorescence

\*\* : immunohistochimie

## ANNEXE F : ANALYSES MOLÉCULAIRES

**Date :** 05 janvier 2010

**Page 1 de 1**

**Unité :** Laboratoire de diagnostic moléculaire, CHU Sainte-Justine

**Technologiste :** Josée Gauthier

Le laboratoire de diagnostic moléculaire a reçu 3 blocs de paraffine traités avec le fixateur moléculaire et le Tissue-Tek<sup>®</sup> Xpress<sup>®</sup> x120. Pour évaluer la quantité et la qualité d'ADN extrait de ces blocs, trois tests ont été effectués et comparés à un bloc témoin préparé selon la procédure habituelle au laboratoire de pathologie (formol + Tissue-Tek<sup>®</sup> VIP<sup>®</sup> 5) :

- une mesure de la concentration au Nanodrop;
- une migration sur gel;
- une amplification par PCR (portion du gène de la dystrophine 47).

Les 3 blocs à tester sont identifiés CA-1, CA-2, CA-3 et le bloc témoin CA-4.

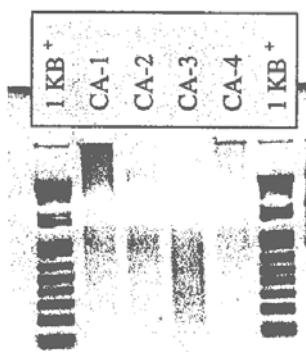
Les résultats sont les suivants :

### Nanodrop

|      | concentration   | ratio 260/280 |
|------|-----------------|---------------|
| CA-1 | 405 ng/ $\mu$ l | 1,5           |
| CA-2 | 368 ng/ $\mu$ l | 1,6           |
| CA-3 | 419 ng/ $\mu$ l | 1,6           |
| CA-4 | 389 ng/ $\mu$ l | 1,5           |

La concentration et la qualité d'ADN sont similaires pour les 4 échantillons.

### Migration sur gel



Ce test permet de vérifier si l'ADN est dégradé.

L'ADN extrait des 4 blocs est dégradé.

### PCR (dystrophine 47)

Ce test valide la présence ou l'absence d'ADN amplifiable dans l'échantillon.

Les 4 échantillons sont identiques. Ils ne permettent pas l'amplification du gène de la dystrophine 47 (photo non présentée).



## BIBLIOGRAPHIE

- Cleary, T. J., Morales, A. R., Nadji, M., Nassiri, M., & Vincek, V. (2005). Antimicrobial activity of UMFix tissue fixative. *J Clin Pathol*, 58(1), 22-25.
- Hofman, P. (2009). Quels fixateurs? Pour quelles indications? *Revue Francophone des Laboratoires*, 408, 1-4.
- Lamph, S., & Bennit, W. (2009). *Non-formalin fixatives*: Centre for evidence-based purchasing.
- Nadji, M., Nassiri, M., Vincek, V., Kanhoush, R., & Morales, A. R. (2005). Immunohistochemistry of tissue prepared by a molecular-friendly fixation and processing system. *Appl Immunohistochem Mol Morpho*, 13(3), 277-282.