



4°C pendant une nuit. Pour la détection, l'enzyme Phosphatase alcaline a été liée à l'anticorps. Le lendemain, les coupes ont d'abord été soigneusement lavées pour éliminer les anticorps non liés. Ensuite, on a versé des gouttes de substrat NBT/BCIP sur les coupes. La Phosphatase alcaline a transformé le substrat en un produit bleu. Les coupes ont été examinées au microscope à lumière, analysées et photographiées.

Résultats

L'illustration 4 montre le résultat d'une coloration Hématoxyline-Eosine (HE) (4a) ainsi que d'une HIS pour le brin transcrit de Gli1 sur un carcinome basocellulaire. Grâce à la coloration HE, les cellules cancéreuses qui se trouvent sous l'épiderme et le derme sont parfaitement reconnaissables.

Cette coloration est une coloration d'ensemble avec laquelle les noyaux des cellules sont colorés en bleu-violet et le cytoplasme en rose.

Une HIS permet au contraire la détection spécifique d'un brin transcrit, dans ce cas de Gli1.

Le résultat de l'HIS avec la sonde spécifique de Gli1 est représenté sur l'illustration 4b. La sonde spécifique, qui est habituellement appelée sonde

antisens, est complémentaire du mARN de Gli1.

Comme contrôle négatif, on utilise une sonde sens (ill. 4c) qui présente la même séquence que le mARN et ne peut donc pas se lier au brin transcrit. Comme le montre l'illustration 4b, Gli1 est exprimé dans les cellules cancéreuses et n'est pas exprimé dans l'épiderme ou le derme.

En revanche, lors de l'utilisation de la sonde sens non spécifique, les cellules cancéreuses ne sont pas colorées (ill. 4c). A partir de ces résultats, il est probable que la voie de signalisation Patched présente une activité bien plus élevée dans les tumeurs cancéreuses. Une contamination avec des RNases provenant d'une eau ou de réactifs impurs aurait entraîné une dégradation des sondes et il n'aurait pas été possible de détecter Gli1 avec la sonde antisens.

Discussion

La méthode d'HIS présentée ici sert à diverses problématiques au cours desquelles les brins transcrits doivent être localisés à l'intérieur d'un tissu.

Ce protocole très détaillé qui nécessite donc beaucoup de travail et engendre des coûts élevés prend habituellement plusieurs jours et est réalisé dans différents laboratoires sous différentes

formes. Ainsi, il est en principe possible d'utiliser des sondes d'ADN à la place de sonde d'ARN pour détecter les brins transcrits de mARN. Les sondes d'ADN offrent, entre autres avantages, une meilleure stabilité de l'ADN par rapport à l'ARN et par conséquent une manipulation plus simple, car elles ne peuvent pas être dégradées par le RNase. Toutefois, les hybrides ARN-ARN sont plus stables que les hybrides ARN-ADN [6] et l'expérience montre donc qu'ils sont préférables en cas d'utilisation de sondes d'ARN-ARN.

Pour éviter que les RNases ne dégradent la sonde d'ARN, il est nécessaire de travailler avec soin et, dans la mesure du possible, de préparer tous les tampons et toutes les solutions avec de l'eau ultrapure ne contenant pas de RNase.

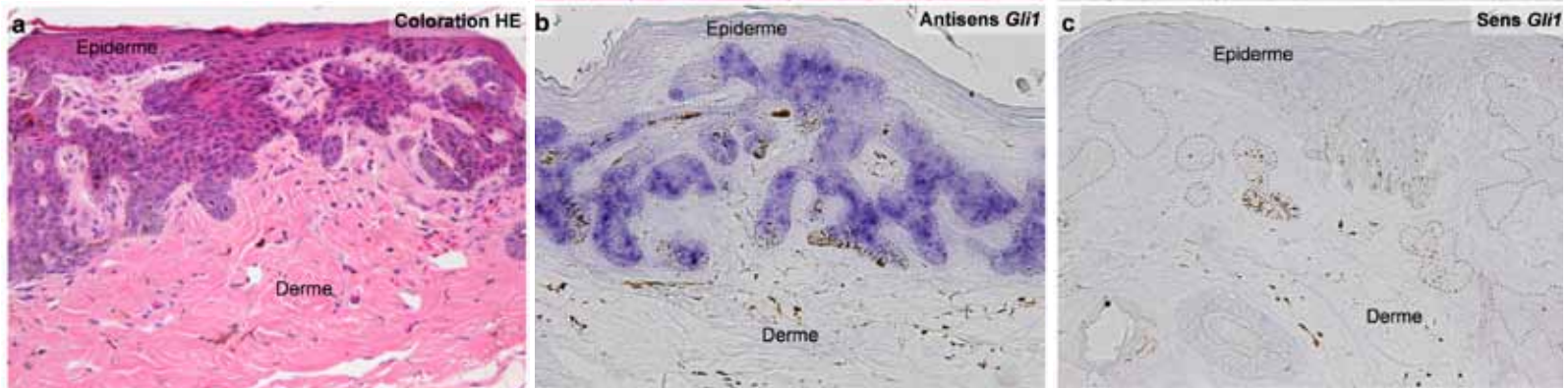
L'eau ultrapure produite avec le système arium® Pro est caractérisée par une qualité élevée et constante respectant toutes les valeurs exigées pour l'eau telles que la conductivité/résistivité, le COT, les RNases/DNases et les endotoxines. Précisément dans le cas d'endotoxines, il a pu être récemment démontré que l'eau ultrapure produite par le système arium® pro VF présente de très faibles concentrations < 0,001 EU/ml [7] et se trouve ainsi bien en dessous des valeurs limites habituelles.

Remerciements

Les auteurs remercient tout particulièrement le Docteur Anja Uhmann, Médecine universitaire de la Georg-August-Universität, Goettingen, Institut de génétique humaine, groupe de travail Génétique des tumeurs, Madame Stephanie Schweizer et Madame Alexandra Scholz, Sartorius-Stedim Biotech, Goettingen, ainsi que le Docteur Herbert Bendlin, Ransbach-Baumbach, pour la relecture du manuscrit et pour la discussion constructive sur le sujet traité.

Bibliographie

- [1] Gall J.G. und Pardue M.L.: Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 63, No. 2, 378-383 (1969)
- [2] Wilcox J.N.: Overview of ISH methodology, Emory University, Winship, Atlanta, GA, USA (2000)
- [3] Zibat A. et al.: Carcinogenesis, 30 No. 6, 918-926 (2009)
- [4] Grundwasser in Deutschland: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU), 1^{ère} édition, août (2008)
- [5] Rund um das Trinkwasser: Umweltbundesamt, (2011) 2^{ème} édition, clôture de la rédaction novembre (2010)
- [6] Sugimoto N. et al.: Biochemistry 34, 11211-11216 (1995)
- [7] Schmidt K. und Herbig E.: Laborpraxis 5, 36.Jhg. S. 52-54 (2012)



Ill. 4 : Coloration HE et HIS de carcinomes basocellulaires. La coloration HE (a) et les résultats d'une HIS de Gli1 (b : antisens) et le contrôle négatif (c : sens) dans un carcinome basocellulaire sont représentés. Les cellules cancéreuses sont indiquées par une ligne en pointillés. L'illustration montre également la position de l'épiderme et du derme.

Une norme AFNOR réétudiée pour toujours plus de sécurité dans les « salles propres » des établissements de santé

La norme NF S90-351 a été mise à jour pour répondre à l'ensemble des besoins des acheteurs, utilisateurs, concepteurs et fournisseurs afin qu'ils agissent ensemble et préviennent tout risque de contamination dans les locaux hospitaliers à environnements maîtrisés.

En 10 ans sont apparues de nouvelles procédures et de nouvelles technologies liées aux installations de traitement et de maîtrise de l'air dans les établissements de santé. Une vingtaine d'organisations* ont donc revisité la norme NF S90-351 en prenant en compte les actuelles exigences de sécurité sanitaire pour la conception, l'utilisation, l'exploitation et la maintenance des « salles propres ».

Une norme volontaire plus opérationnelle

Le domaine d'application a été étendu à l'ensemble des zones à environnements maîtrisés des établissements de santé : secteurs interventionnels, opératoires (y compris post-interventionnel), de soins

intensifs et réanimation, soins protégés, pharmacie, stérilisation, laboratoires...

Cette nouvelle norme guide les parties prenantes plus en amont, en délivrant une aide à l'analyse de risque et à la formalisation des besoins, des performances attendues et des contraintes à respecter. Les acteurs pourront s'appuyer sur un tableau spécifiant la classe de risque minimum à respecter en fonction du type d'activité dans les différents secteurs à risque. On y retrouvera de nombreux outils essentiels pour chaque étape de conduite de projet que chaque type d'acteur pourra s'approprier, afin de mener à bien cette conduite de projet et prévenir ainsi tout risque de contamination dans les locaux hospitaliers à environnements maîtrisés.

*23 organisations ont participé à l'élaboration de la norme NF S90-351 : AIR SUR, AH HP (Hôpital Antoine Beclère), Architectes Ingénieurs Associés, Artelia Bâtiment et Industrie, ASPEC Beming, CAMFIL, Centre hospitalier intercommunal Créteil, CHU de Rouen,

CIAT SA, France Air, IHF (Ingénieurs hospitaliers de France - CHU de Toulouse), JHAC, Laboratoire ICARE, Ministère des affaires sociales et de la santé (DGOS - DG de l'offre de soins), SF2H (SoC FSE d'hygiène hospitalière), Unitaire et l'UNM.

La norme est disponible sur le portail du Groupe AFNOR - Indice de classement : S 90-351 ; ICS : 11.080.01

Qu'est-ce qu'une norme volontaire ?

Une norme est un document de référence publié par AFNOR, faite de manière itérative et collaborative avec le concours actif des professionnels fédérés de manière représentative (industriels, consommateurs, associations, syndicats, collectivités locales...). Une norme fournit des principes et des exigences pour une activité ou ses résultats. Créée sur demande des acteurs d'un marché ou d'un secteur d'activité et après étude d'AFNOR, elle est le consensus entre l'ensemble des parties prenantes concernées. 33 000 normes volontaires sont aujourd'hui en vigueur. Seules 1% sont rendues obligatoires par la réglementation. Revues systématiquement et a minima tous les cinq ans pour lutter contre toute obsolescence, les professionnels décident de leur maintien, mise à jour ou annulation.

Sur les 1950 nouveaux documents publiés en 2011, 1220 étaient des révisions. 2000 normes sont retirées chaque année des collections.

A propos d'AFNOR

L'association AFNOR et ses filiales constituent un groupe international au service de l'intérêt général et du développement économique. Il conçoit et déploie des solutions fondées sur les normes, sources de progrès et de confiance. Les missions d'intérêt général sont assurées par l'association dans le cadre d'un décret qui lui confère l'animation et la coordination du système français de normalisation, la représentation des intérêts français dans les instances européennes et internationales de normalisation, l'élaboration et la diffusion des normes. Ses filiales - formation, évaluation et certification, réseau international - quant à elles, exercent des activités de marché dans un environnement concurrentiel et en respectent strictement les règles. La direction générale du Groupe est assurée par Olivier Peyrat.

Plus d'informations sur

<http://www.afnor.org>