

TEST IHC DÉVELOPPÉ EN LABORATOIRE POUR L'ANTICORPS ANTI-PD-L1 22C3 SUR VENTANA BENCHMARK ULTRA^{1,2,3}

Ce protocole a été développé pour l'anticorps concentré 22C3 sur le Ventana Benchmark Ultra. Les échantillons étaient soit des résections chirurgicales (95 %) soit des biopsies des ganglions médiastinaux bronchiques ou transbronchiques (5 %) fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE).^{1,2,3}

Il a été optimisé en ajustant les paramètres suivants : (1) Démasquage des épitopes ; (2) Dilution / concentration de l'anticorps primaire utilisé ; (3) Temps et température d'incubation de l'anticorps primaire ; (4) Système de détection / révélation et amplification ; (5) Contre-coloration

Étapes du protocole :

Des coupes de 3 µm sont réalisées et étalées sur lame avant de sécher pendant au moins 1h à 37°C.

Remarque : les lames de verre doivent être conservées à 4°C si elles ne sont pas colorées immédiatement après la coupe.

1. Démasquage des épitopes :

Le démasquage des épitopes est réalisé en utilisant la solution ULTRA CC1, pré-diluée, pH 8 (Ventana 950-224) sur Ventana BenchMark ULTRA pendant 64 min à 100°C.

2. Dilution / concentration de l'anticorps primaire utilisé :

L'anticorps concentré 22C3, anti-PD-L1 (Dako M365329) doit être dilué au 1:50 dans le diluant Antibody Diluent (Ventana 251-018).

3. Temps et température d'incubation de l'anticorps primaire :

Incubation pendant 32 min à 37°C.

4. Système de détection / révélation et amplification :

Kit de détection OptiView DAB IHC Detection Kit (Ventana 760-700) et kit d'amplification OptiView Amplification Kit (Ventana 760-099) pendant 12 min.

5. Contre-coloration :

Les lames sont ensuite contre-colorées avec de l'Hématoxylin II (Ventana 790-2037) et recouvertes d'une lamelle.

Références :

1. Ilie M & Hofman P. PD-L1 22C3 LDT on VENTANA BenchMark ULTRA automate. <https://www.protocols.io/view/pd-l1-22c3-ldt-on-ventana-benchmark-ultra-automate-ixacfie> (Published 13 July 2017).
2. Ilie M, Khambata-Ford S, Copie-Bergman C, Huang L, Juco J, Hofman V, Hofman P. Use of the 22C3 anti-PD-L1 antibody to determine PD-L1 expression in multiple automated immunohistochemistry platforms. *PLoS One* 2017;12(8):e0183023.
3. Ilie M, Juco J, Huang L, Hofman V, Khambata-Ford S, Hofman P. Use of the 22C3 anti-programmed death ligand 1 antibody to determine programmed death ligand 1 expression in cytology samples obtained from non-small cell lung cancer patients. *Cancer Cytopathol* 2018. doi: 10.1002/cncy.21977.

Les protocoles disponibles dans cet outil ne sont pas exhaustifs. Les tests développés dans le laboratoire ou « tests maison » doivent être validés en comparaison à un test ou kit de référence. Leur calibration doit faire l'objet d'une attention particulière.