

## TIPAGEM HLA PELOS MÉTODOS DE PCR-SSO E PCR-SSP: IDENTIFICAÇÃO E RESOLUÇÃO DE AMBIGUIDADES

PAMELA PORTELA DA SILVA; JÓICE MERZONI, PATRÍCIA HARTSTEIN SALIM, MARIANA JOBIM, JEANINE SCHLOLTTFELDT, MONICA KRUGER, BEATRIZ CHAMUN GIL, LUIZ FERNANDO JOBIM

**Introdução:** O grande avanço na tipagem do polimorfismo HLA ocorreu com o advento das técnicas que utilizam a biologia molecular. Dois métodos têm sido bastante utilizados para a tipagem HLA de classe I e II: SSO (*Sequence Specific Oligonucleotide*) e SSP (*Sequence Specific Primers*). O método SSO, quando comparado ao SSP, apresenta ambiguidades na tipagem HLA. As ambiguidades são decorrentes da incapacidade do método em identificar um alelo HLA com certeza. **Objetivos:** Identificar as ambiguidades para os locos A, B e DR do sistema HLA, obtidas pela técnica de PCR-SSO (LABType-SSO, One Lambda) e solucioná-las através da técnica de PCR-SSP utilizando protocolo *in house* desenvolvido pelo Serviço de Imunologia. **Materiais e Métodos:** Foram listadas 300 ambiguidades, sendo 100 para o loco A, 100 para o loco B e 100 para o loco DR, obtidas de doadores voluntários de medula óssea. Inicialmente, o método de tipagem HLA foi PCR-SSO, utilizando o aparelho automático Luminex. Após a identificação das ambiguidades, as 300 amostras de DNA foram submetidas à nova tipagem HLA pelo método PCR-SSP, conforme protocolo *in house*. Utilizamos o método de PCR-SSO por ser analisado pelo Luminex, possibilitando realizar um grande número de amostras. O PCR-SSP é manual e não permite resolver a grande quantidade de doações que recebemos mensalmente. **Resultados e Conclusões:** As ambiguidades mais frequentes foram A\*01\*26/A\*26\*36 (50%), B\*35\*51/B\*53\*78 (21,3%) e DR\*11\*11/DR\*11\*13 (73%). Todas as ambiguidades para os locos A, B e DR foram solucionadas pela técnica de PCR-SSP. Devido ao grande polimorfismo observado no loco B, encontramos uma maior frequência de ambiguidades nesse loco. O método de PCR-SSP desenvolvido *in house* é adequado para solucionar todas as ambiguidades apresentadas pela técnica de PCR-SSO.