

## **TIPAGEM HLA PELO MÉTODO SSP/PCR CONTROLE DE QUALIDADE DOS TESTES REALIZADOS NO SERVIÇO DE IMUNOLOGIA.**

*Barreto, A., Schlottfeldt, J.L., Oliveira, M.F.S., Ludwig, M.K., Külzer, A.S.S., Toresan, R., de-Paris, F., Jobim, L.F. Serviço de Imunologia/HCPA.*

O Complexo Principal de Histocompatibilidade abrange diversos genes localizados no braço curto do cromossoma 6, incluindo o sistema HLA (Human Leucocyte Antigens). Este último está subdividido em genes de classe I e II, representados respectivamente pelos locos HLA-A, B, C e HLA-DR, DQ e DP.

O desenvolvimento da tipagem molecular do sistema HLA foi decorrente de estudos de seqüenciamento dos genes HLA no final do século XX, tendo sido desenvolvidos, a partir de então, vários métodos de tipagem baseados na análise do DNA. Entre estes, um dos mais utilizados é o PCR/SSP (Polymerase Chain Reaction/Sequence Specific Primers).

O Serviço de Imunologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre iniciou, em 1995, os estudos com o método SSP, tendo como base a publicação de Bunce et al, na qual os mesmos protocolos de PCR são utilizados para tipagem de classe I e II. O método foi inscrito no "International DNA Exchange Program" organizado pela UCLA (Universidade da Califórnia em Los Angeles), com envio trimestral de 6 amostras de DNA para tipagem molecular de classes I e II.

A proposta deste estudo é avaliar os resultados obtidos neste controle de qualidade desde 1995 até a presente data. Para tanto, os resultados obtidos no Serviço de Imunologia foram confrontados com os resultados de consenso, o que permitiu uma avaliação detalhada das falhas de interpretação, dos primers e da composição do kit, a qual foi sendo alterada a fim de se obterem resultados mais precisos.

O levantamento de dados é referente ao período de fevereiro de 1999 a janeiro de 2002, abrangendo 114 amostras controle e totalizando 923 alelos identificados, sendo que a técnica avalia 21 alelos do loco A, 46 do loco B, 15 do loco DRB1, 3 dos locos DRB 3/4/5 e 8 do loco DQB1. Dentre os 923 alelos identificados, foram encontradas 25 discordâncias nas tipagens liberadas pelo laboratório, em relação à aceita pelo consenso do programa de controle de qualidade. Este resultado corresponde a 97,5% de concordância no total. Esta percentagem de acerto foi considerada um bom resultado, sendo que nos primers em que foram identificados discordância no resultado, foram realizadas adaptações nas concentrações para resolver os problemas, assim como a padronização de novas reações para cobrir as limitações da técnica.

A avaliação dos resultados deste controle de qualidade demonstra sua relevante importância em agregar qualidade de forma crescente a esta técnica, fazendo com que nosso laboratório se torne independente no sentido de produzir sua própria metodologia, diminuindo custos, sempre primando pela qualidade.