

Avaliação Direta do Kit Investigator® 26plex QS com outros Kits utilizados na rotina laboratorial do SGBF-C

^{1,2}P. Cardoso, ¹A. Serra, ¹V. Bogas, ¹F. Balsa, ¹V. Lopes, ¹P. Cunha, ¹M. São Bento, ¹A.M. Bento, ¹L. Sampaio, ¹M.J. Porto, ^{3,4}A. Amorim, ^{2,5}F. Corte Real, ¹P. Brito

- ¹ Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. – Delegação do Centro, Serviço de Genética e Biologia Forenses
² Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
³ Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. – Serviço de Genética e Biologia Forenses
⁴ Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
⁵ Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.



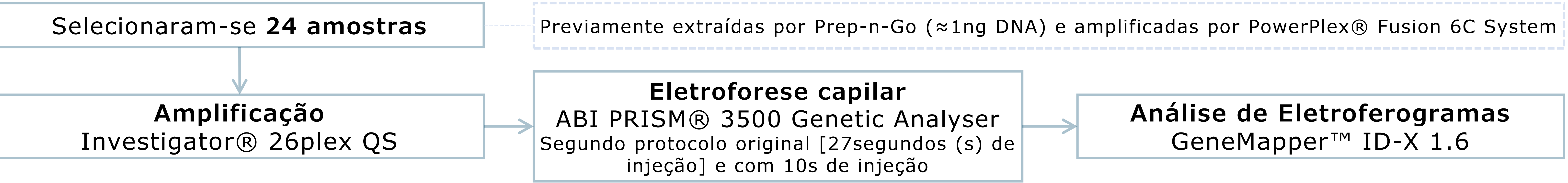
Introdução

A identificação genética individual de entre outras metodologias utilizadas, pode ser determinada através do estudo e caracterização de STRs, sendo para tal necessário recorrer a técnicas de amplificação do ADN^a. O contínuo desenvolvimento científico e o aparecimento de novas metodologias, compele à atualização dos procedimentos laboratoriais. Contudo, a implementação de uma metodologia, num laboratório acreditado (IPAC - L0655 – NP EN ISO/IEC 17025), requer uma validação interna que compreende a avaliação direta por comparação com métodos já estabelecidos^b.

O Kit Investigator® 26plex QS, da QIAGEN, assenta numa reação de PCR multiplex, que amplifica em simultâneo: 24 STRs, 2 Sensores de Qualidade e Amelogenina. Os Sensores de Qualidade (QS) incluídos neste Kit de amplificação permitem inferir sobre a qualidade da amostra e o sucesso da reação de PCR, alertando, igualmente, para a presença de inibidores^c.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o Kit Investigator® 26plex QS, por comparação direta com as metodologias já implementadas e validadas no SGBF-C, o GlobalFiler™ PCR Amplification Kit e o PowerPlex® Fusion 6C System.

Material e Métodos



Resultados

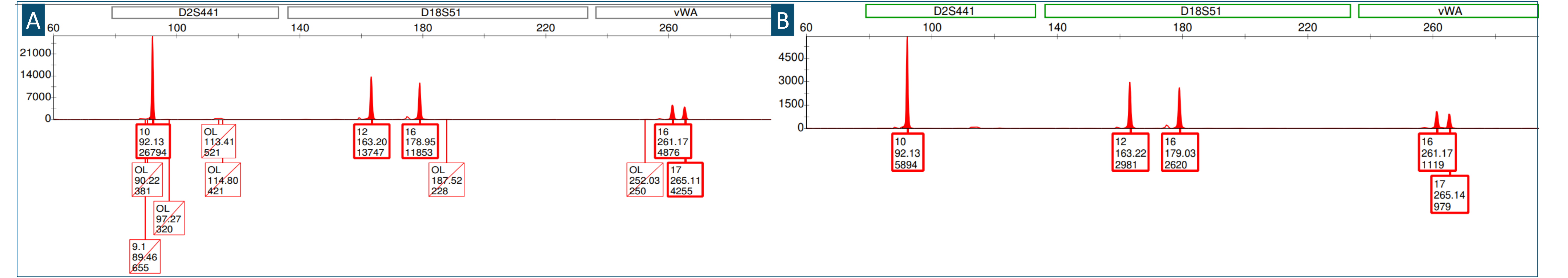


Imagem I: Comparação entre os eletroferogramas resultantes da amplificação do Kit Investigator® 26Plex com (A) 27s de injeção no ABI PRISM® 3500, segundo protocolo original do fabricante, e (B) 10s, tempo de injeção escolhido segundo a experiência dos peritos do SGBF-C.

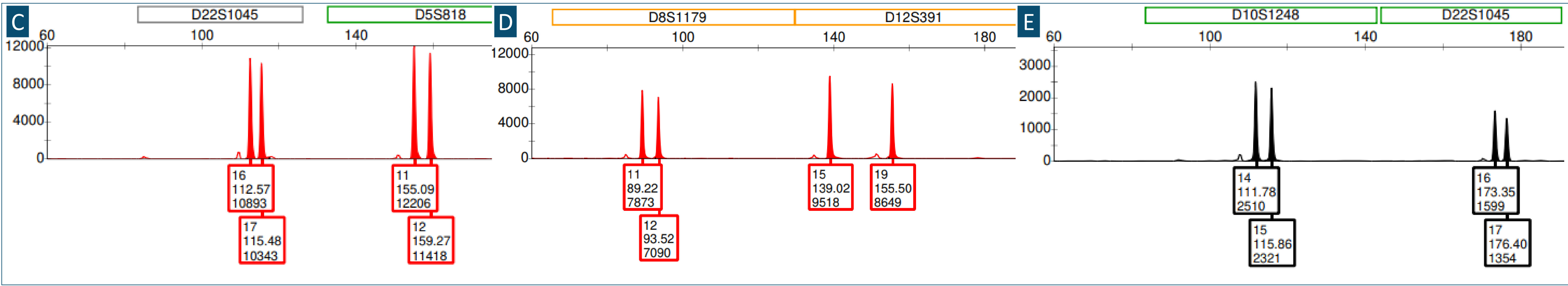


Imagem II: Amplificação de diferentes marcadores de uma mesma amostra com (C) GlobalFiler™ PCR Amplification Kit, (D) PowerPlex® Fusion 6C System e (E) e Investigator® 26plex QS.

Conclusão

Este trabalho permitiu constatar que a eletroforese capilar com 27s de injeção é inadequada para a análise de amostras de referência, colhidas em indivíduo e extraídas segundo a metodologia habitualmente utilizada no SGBF-C, visto que os eletroferogramas resultantes apresentam inúmeros artefactos que prejudicam a sua análise. Contudo, esta dificuldade pode ser ultrapassada pela redução do tempo de injeção para 10s.

Os perfis genéticos obtidos com o Kit Investigator® 26plex QS são concordantes com os perfis procedentes da análise através das metodologias já validadas no SGBF-C. Adicionalmente, a inclusão dos QS permite aferir o sucesso da reação de PCR e/ou da presença de inibidores ou de degradação, informação não incluída nos perfis genéticos obtidos com os kits anteriormente referidos.

Os dados preliminares deste trabalho evidenciam o potencial deste Kit de amplificação e sugerem tratar-se de uma metodologia robusta de análise. Sendo, não obstante, imprescindível a realização de estudos complementares de validação.

Referências

- ^a Butler, J. M. (2011). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. San Diego: Elsevier Academic Press.
^b Butler, J. M. (2005). *Fundamentals of Forensic DNA Typing - Biology, Technology, and Genetics of STR Markers*. San Diego: Elsevier Academic Press.
^c QIAGEN. (2021). *Investigator® 26plex QS Handbook: For multiplex amplification of the CODIS core loci, the European standard set of loci, plus Penta D, Penta E, D6S1043, DYS391, and Amelogenin*. Hilden.