

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE DETECÇÃO DO KIT QUANTIPLEX PRO NO LABORATÓRIO DE BIOLOGIA E DNA FORENSE - GO

Souza-Neto AC^{1*}, Pimentel KN¹, Martinucci B¹

¹ Laboratório de Biologia e DNA Forense da Polícia Científica, Goiânia, Goiás

*Advaldo Carlos de Souza Neto; e-mail: advaldo.neto@policiacientifica.go.gov.br

RESUMO

A quantificação de DNA humano em amostras forenses é crucial, e deve ser sensível o suficiente para orientar a decisão do analista. No presente estudo, foi avaliada a sensibilidade de detecção do kit Investigator® Quantiplex® PRO (QIAGEN®) de modo a tornar as decisões dos analistas do LBDF/GO mais objetivas, e os resultados mais robustos, confiáveis e reprodutíveis.

Palavra-chave: quantificação, validação, confiabilidade.

Introdução

A quantificação de DNA humano em amostras forenses é crucial para a normalização do DNA antes da genotipagem por marcadores STR. Desta forma, os resultados de quantificação devem ser sensíveis o suficiente para orientar o analista para as melhores escolhas de decisão.

Objetivo

Avaliar a sensibilidade de detecção do kit Investigator® Quantiplex® PRO (QIAGEN®) no Laboratório de Biologia e DNA Forense (LBDF) da Polícia Científica de Goiás.

Métodos

Para a avaliação da sensibilidade de detecção do kit Quantiplex PRO (QIAGEN) no equipamento 7500 (Applied Biosystems) três amostras de sangue de origem conhecida foram extraídas em triplicata e quantificadas. A partir do resultado de quantificação obtido de cada réplica (n=9), foi realizada uma curva de diluição, de modo que, para cada réplica, fossem obtidas soluções com diversas concentrações no intervalo de 1 ng/μl a 0,0005 ng/μl. Após a diluição, cada solução foi quantificada novamente.

Resultados e Discussão

Procedimentos de quantificação com altos níveis de imprecisão e baixa acurácia podem levar a perda de tempo e recursos durante as etapas posteriores do exame de DNA. Para avaliar a precisão do sistema, foram comparadas a média e o desvio padrão dos valores obtidos para o alvo autossômico do kit (alvo menor - 91pb). A baixa

variação dos valores obtidos indica uma boa precisão do kit Investigator® Quantiplex® PRO (QIAGEN®) na inferência da quantidade de DNA presente em uma solução.

Para avaliar a exatidão do sistema, avaliou-se a porcentagem de erro de cada réplica em relação à concentração esperada de acordo com a diluição realizada. Ao analisar a diferença entre as médias das porcentagens de erro, observa-se que as concentrações de 0,001ng/μl e 0,0005ng/μl apresentaram porcentagens de erro significativamente diferentes daquelas observadas nas demais concentrações. Os resultados mostram que a partir da concentração de 0,001ng/μl a porcentagem de erro tem um leve aumento. Isso indica que em concentrações menores que 0,001ng/μl aumenta-se a inexatidão do resultado obtido para este alvo.

Tabela 1. Sensibilidade e acurácia do kit.

[] ng/μL esperada	Média [] ng/μL	Coefficiente de Variação	% de erro
1	1,0077 ± 0,1377	13,66	12,22 ± 4,74
0,5	0,5174 ± 0,0574	11,09	9,4 ± 6,79
0,1	0,1032 ± 0,0153	14,83	13,01 ± 7,47
0,01	0,0108 ± 0,0022	20,37	17,13 ± 14,63
0,005	0,0055 ± 0,0005	9,09	11,45 ± 6,43
0,001	0,0012 ± 0,0003	25,00	31,62* ± 23,95
0,0005	0,0008 ± 0,0003	37,5	57,77* ± 48,03

*porcentagem de erro significativamente diferente (p < 0,05).

Conclusão

A partir da validação da sensibilidade do kit Quantiplex®, a análise dos resultados da quantificação pelo (LBDF), tornou-se mais objetiva, precisa e segura, facilitando a tomada de decisão dos analistas.

Referências bibliográficas

VRANEŠ M., et al. Development and validation of the Investigator® Quantiplex Pro Kit for qPCR-based examination of the quantity and quality of human DNA in forensic samples. Forensic Sci. Int.: Genetics Supplement Series. 6:e518-e519, 2017).

QIAGEN. Investigator® Quantiplex® Pro Handbook (2018).

Realização