

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Centro de Desenvolvimento Tecnológico
Curso de Graduação em Biotecnologia



Trabalho Acadêmico

**Validação do Manual de Coleta do Laboratório de
Investigação de Paternidade- CDCT- FEPPS: Casos Atípicos**

Suelen Porto Basgalupp

Pelotas, 2012

SUELEN PORTO BASGALUPP

**VALIDAÇÃO DO MANUAL DE COLETA DO LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO
DE PATERNIDADE- CDCT- FEPPS: CASOS ATÍPICOS**

Trabalho Acadêmico apresentado
ao Curso de Graduação em
Biotecnologia da Universidade
Federal de Pelotas como requisito
parcial à obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora acadêmica: Fabiana Kömmling Seixas

Orientadora de estágio: Clarice Sampaio Alho

Co-orientador de estágio: Rodrigo Rodenbusch

Pelotas, 2012

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

B297v Basgalupp, Suelen Porto

Validação do manual de coleta do laboratório de investigação de paternidade-CDCT-FEPPS: casos atípicos / Suelen Porto Basgalupp ; orientador acadêmico Fabiana Kömmling Seixas; orientador de estágio Clarice Sampaio Alho; co-orientador Rodrigo Rodenbusch. Pelotas,2012.53f.: il - Monografia (Conclusão de Curso em Biotecnologia) –. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

1.Identificação humana 2.STR 3.Reconstrução genética
4.Paternidade I.Seixas, Fabiana Kömmling(orientador) II .Alho,Clarice Sampaio(orientador) III.Título.

CDD 575.1

Banca examinadora:

Dr^a Helena Strelow Thurow

M.Sc. Luciana Olivares Zanini

Dr^a Sibeles Borsuk

Dr^a Fabiana Kömmling Seixas (orientadora)

Dedicatória

Ao meu pai Jorge Basgalupp
(*in memoriam*) a quem devo grande
parte do que sou hoje e por ser um
exemplo em minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Dr^a Fabiana Seixas por ter me orientado durante o período da graduação e pelo ensinamento ao longo do curso.

À Dr^a Clarice Sampaio Alho pela oportunidade de realizar este trabalho, pela atenção, pelo acompanhamento e orientação do trabalho, pela amizade, pela confiança e pelo exemplo de pessoa e pesquisadora.

Ao M.Sc Rodrigo Rodenbusch pela paciência, dedicação, disponibilidade, incentivo e contribuição na realização deste trabalho.

Aos queridos colegas do Laboratório de Genética Humana e Molecular da PUCRS pelo acolhimento e pela amizade.

À Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) pela realização deste trabalho, em especial ao Laboratório de Investigação de Paternidade (LIP).

Aos colegas do LIP pela solidariedade, amizade e por dividirem comigo seu espaço de trabalho.

À minha mãe, pelo constante exemplo de força e dedicação e, acima de tudo, pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos, Márcio, Taiane e Ana Luiza, que são meu apoio e meus eternos amigos.

À minha avó Eulina pelo carinho, apoio e incentivo durante esse período.

À minha cunhada Dayane Tada, que mesmo distante se fez presente e disponível para me ajudar.

Às minhas colegas e amigas Carolina Ximendes, Caroline Lucas, Mariana Remião e Thaís Oliveira pela convivência inesquecível, pelos sorrisos, conselhos e torcida.

Ao meu grande amigo e namorado, Leandro Prietto. Agradeço pelo apoio, confiança, carinho, paciência e companhia nos momentos mais difíceis e nos mais felizes.

A todos os familiares e amigos que são essenciais em minha vida.

Muito Obrigada!

“Não desista enquanto você ainda
for capaz de fazer um esforço a mais.
É nesse algo a mais que está a sua vitória.”

Roberto Shinyashiki.

RESUMO

Porto Basgalupp, Suelen. **Validação do Manual de Coleta do Laboratório de Investigação de Paternidade- CDCT- FEPPS: Casos Atípicos**. 2012. Monografia – Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Foram analisados os resultados de 858 casos em que o suposto pai é falecido ou desaparecido (atípicos) visando identificar a melhor escolha de parentes do suposto pai para o sucesso da reconstrução genética do mesmo. Todos os indivíduos participantes dos casos foram atendidos no Laboratório de Investigação de Paternidade do Rio Grande do Sul. Dos 858 casos, 242 foram excluídos da análise devido à reconstrução genética ter sido realizada a partir da análise simultânea do material genético do pSPFA (pai do suposto pai falecido ou ausente) + mSPFA (mãe do suposto pai falecido ou ausente), configuração que leva ao sucesso da reconstrução do genótipo do suposto pai. Os demais casos foram divididos em 5 categorias de configuração por parentesco: pSPFA ou mSPFA mais irmão do SPFA (iSPFA); iSPFA; esposa do SPFA (eSPFA) mais filho do SPFA (fSPFA); fSPFA; apenas pSPFA ou mSPFA. Os resultados mostraram que, não havendo a configuração pSPFA + mSPFA disponível para a reconstrução genética, a taxa de sucesso foi de 73,5% (453/616), sendo que as opções com maior taxa de sucesso foram as configurações eSPFA + 3 fSPFA (99%) e pSPFA ou mSPFA + 3 iSPFA (93,3%).

Palavras-chave: Identificação Humana. STR. Reconstrução genética. Paternidade.

ABSTRACT

Porto Basgalupp, Suelen. **Validação do Manual de Coleta do Laboratório de Investigação de Paternidade- CDCT- FEPPS: Casos Atípicos**. 2012. Monografia – Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

We analyzed the results of 858 cases in which the alleged father were deceased or missing (atypical) in order to identify the best choice of relatives of the alleged father for the success of his genetic reconstruction. All the individuals were attended at the Laboratory of Paternity of Rio Grande do Sul. Of the 858 cases, 242 were excluded from the analysis since the genetic reconstruction was performed by simultaneous analysis of DNA from fAFDM (father of the alleged father deceased or missing) + mAFDM (mother of the alleged father deceased or missing) and this configuration that leads to the success of reconstruction of the genotype of the supposed father. Then, the remaining cases were divided into five categories: fAFDM or mAFDM plus siblings of the AFDM (sAFDM); sAFDM; wife of the AFDM (wAFDM) plus the child of the AFDM (cAFDM); cAFDM; only fAFDM or only mAFDM. The results showed that in the absence of configuration fAFDM + mAFDM, the success rate of the reconstruction was 73.5% (453/616). The highest success rates were obtained with the configurations of wAFDM + 3 cAFDM (99%) and fAFDM or mAFDM + 3 sAFDM (93.3%).

Keywords: Human Identification. STR. Genetic reconstruction. Paternity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	STR autossômicos integrados ao sistema CODIS com suas respectivas sequências repetitivas e variações alélicas	14
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AABB	<i>American Association of Blood Banks</i>
CODIS	Sistema de DNA Índice Combinado (<i>Combined DNA Index System</i>)
DNA	Ácido Desoxirribonucléico (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
eSPFA	Esposa do Suposto Pai Falecido ou Ausente
FBI	Escritório Federal de Investigação dos EUA (<i>Federal Bureau of Investigation</i>)
FEPPS	Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde
fSPFA	Filho(a) do Suposto Pai Falecido ou Ausente
GHEP-ISFG	Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa da <i>International Society for Forensic Genetics</i>
IP	Índice de Paternidade
IPC	Índice de Paternidade Combinado
iSPFA	Irmão(ã) do Suposto Pai Falecido ou Ausente
LIP	Laboratório de Investigação de Paternidade
mSPFA	Mãe do Suposto Pai Falecido ou Ausente
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PP	Probabilidade de Paternidade
pSPFA	Pai do Suposto Pai Falecido ou Ausente
SPFA	Suposto Pai Falecido ou Ausente
STR	Repetições Sucessivas Pequenas (<i>Short Tandem Repeat</i>)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1- Marcadores do DNA humano na análise de parentesco	12
1.2- A realidade da Investigação de Paternidade no Estado do RS	17
2. JUSTIFICATIVA	18
3. OBJETIVOS	19
3.1- Objetivo geral	19
3.2- Objetivos específicos	19
4. ARTIGO CIENTÍFICO	20
5. REFERÊNCIAS	30
6. ANEXOS	32

1. Introdução

1.1- Marcadores do DNA humano na análise de parentesco

O DNA é fonte intrínseca de toda a informação genética que determina as características individuais. Está disponível em quantidade suficiente para análise em todas as células nucleadas do sangue e tecidos, em menor concentração no soro ou no plasma e no líquido amniótico placentário (Wonder, 2007). O DNA presente nos cromossomos é composto por regiões codificantes e não codificantes. Nestas, encontram-se os marcadores genéticos polimórficos que são utilizados na identificação humana (Butler, 2005).

Dada a importância dos genes na determinação das características individuais, conceitos e métodos genéticos passaram a ser utilizados na solução de questões relacionadas com a identificação humana. A análise do DNA para a identificação individual baseia-se no fato de que cada pessoa apresenta características fenotípicas próprias, pois apresenta uma composição genética única, exceto os gêmeos monozigóticos. Além disso, o DNA de um indivíduo é igual em qualquer célula de seu corpo. Esses princípios permitem identificar um “perfil molecular”, a partir de uma amostra de DNA originada de qualquer tecido (Marques, 2003).

A análise do DNA na determinação do perfil molecular de um indivíduo, além de extremamente precisa, pode ser realizada com pequenas quantidades de material, como por exemplo, a partir de um fio de cabelo ou de uma gota de sangue. Além disso, é possível chegar a um resultado conclusivo até mesmo quando se tem amostras antigas ou no caso de haver mistura entre as amostras. Por essas razões, a análise do DNA tem revolucionado os métodos de identificação humana aplicados à medicina forense (Dolinski & Pereira, 2007).

A identificação humana através da estrutura do DNA é a metodologia mais moderna aplicada mundialmente e está baseada em diferenças na sequência de DNA dos *loci* de uma pessoa para outra. Estas diferenças genéticas são conhecidas como polimorfismos. Os polimorfismos genéticos correspondem a formas alternativas de sequências de nucleotídeos e, quando analisados no nível de DNA,

estas sequências diferem entre si por alterações no comprimento do segmento de DNA ou alterações do tipo troca de base (Jeffreys *et al.*, 1985a).

Os marcadores genéticos mais utilizados para identificação humana e teste de paternidade são os STRs (*Short tandem repeats*) (Gill *et al.*, 2004; Phillips *et al.*, 2011). Os microssatélites (STRs) são sequências repetidas de 3 a 7 pares de base que designam alelos diferenciados e nomeados pelo número de cópias de sequências repetidas contidas nas regiões de grande polimorfismo, e são altamente informativos da individualidade humana (Grubic *et al.*, 2005). O número de repetições de STR por marcador é altamente variável entre indivíduos da mesma espécie, podendo ser usados em análises de vínculo genético, utilizando a técnica de Biologia Molecular, chamada de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (Pena, 2005). Na análise de investigação de paternidade deve-se analisar um número suficiente de marcadores, geralmente recomenda-se mais de 12 *loci* (Mayntz-Press, 2007).

A investigação de vínculo genético é realizada através da comparação de *loci* STRs presentes no DNA, os quais variam entre as pessoas da população. As diferentes formas que o DNA pode apresentar para um mesmo *locus* são chamadas alelos, e cada indivíduo possui dois alelos para cada *locus*, um de origem materna e o outro de origem paterna (AABB, 2008).

Já foram identificados milhares de marcadores STR. Há uma estimativa de que no genoma humano exista um STR a cada 10.000 pares de bases, fornecendo uma variedade de *loci* para uso em testes de identificação humana. Os marcadores STR são utilizados em diversas pesquisas as quais têm gerado um importante banco de dados sobre populações de diferentes continentes. Suas sequências são amplamente conhecidas e disponíveis em alguns bancos, como no Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) dos Estados Unidos. Para que haja um intercâmbio e uma comparação de resultados efetivos e distintos, é necessário utilizar diferentes marcadores genéticos comuns, havendo assim critérios para selecionar os marcadores STRs a serem aplicados na identificação humana. Entre os critérios para a escolha individual de cada STR, tem-se: possuir um alto poder de discriminação, alta frequência de heterozigosidade, baixa taxa de mutação e tamanho entre 90 e 500 pares de bases. Ainda, para a escolha do conjunto de STRs que serão selecionados, deve-se primar que eles estejam localizados em distintos

cromossomos (para evitar marcadores ligados) e possibilidade de uso em reações *multiplex* (Figini *et al.*, 2003). Atualmente, os marcadores mais utilizados mundialmente são os 13 STRs autossômicos integrados ao sistema CODIS (*Combined DNA Index System*) estabelecido em 1997 pelo *Federal Bureau of Investigation* (FBI) para a criação de um banco de dados nacional (Tabela 1) (Butler, 2005; Grubwieser *et al.*, 2007).

Tabela 1. STR autossômicos integrados ao sistema CODIS com suas respectivas sequências repetitivas e variações alélicas.

Locus	Unidade de Repetição	Varição Alélica	Nº de alelos existentes
D8S1179	[TCTA] [TCTG]	7 – 20	15
D21S11	[TCTA] [TCTG]	12 – 41.2	89
D7S820	GATA	5 – 16	30
CSF1PO	TAGA	5 – 16	20
D3S1358	[TCTG] [TCTA]	8 – 21	25
TH01	TCAT	3 – 14	20
D13S317	TATC	5 - 16	17
D16S539	GATA	5 - 16	19
VWA	[TCTG] [TCTA]	10 - 25	29
TPOX	GAAT	4 – 16	15
D18S51	AGAA	7 – 39.2	51
D5S818	AGAT	7 - 18	15
FGA	CTTT	12.2 – 51.2	80

Fonte: Butler (2005).

Existem diversos produtos comerciais disponíveis para amplificar todos esses marcadores em uma só reação (*PCR multiplex*). São bastante utilizados por laboratórios forenses e, desta forma, contribuem para a padronização e o estabelecimento de bancos de dados das mais variadas populações, espalhadas ao redor do mundo. Cada marcador do CODIS apresenta diversos alelos porque as mutações que ocorrem nestes são frequentemente em sequências de repetições

sucessivas (geradas, em média, uma nova mutação a cada 300 gerações humanas). Por esta razão, os diferentes alelos são encontrados nos mais diversos indivíduos, tornando tais marcadores perfeitamente aplicáveis ao propósito da identificação (Rapley & Whitehouse, 2007).

Entre os principais *kits* comerciais que possibilitam a amplificação em *PCR multiplex* de marcadores STRs para genotipagem, utilizados na rotina da maioria dos laboratórios forenses, destacam-se os mais convencionais: o *AmpFISTR® Identifiler™*, da empresa *Applied Biosystems, Life Technologies* e o *PowerPlex® 16*, da *Promega Corporation*. Em ambos os *kits* estão inclusos os treze marcadores STR do CODIS. Além destes 13, os *kits* possuem a amelogenina (marcador genético que identifica o cromossomo sexual) e os marcadores genéticos D2S1338 e D19S433, no *kit AmpFISTR® Identifiler™*, e os marcadores PENTA D e PENTA E, no *kit PowerPlex® 16* (Butler, 2005).

Com um total de 15 marcadores genéticos em uma só reação de PCR, estes dois *kits* satisfazem as exigências necessárias para a maioria dos casos de identificação e/ou testes de paternidade chamados ‘normais’ ou ‘típicos’, ou seja, naqueles em que há a análise de vínculo genético entre mãe, filho e o suposto pai (Betz *et al.*, 2007).

No entanto, há casos de vínculo de parentesco mais complexos em que a utilização destes 15 STRs não garante o poder de discriminação desejado, podendo ficar sem solução. Testes de paternidade chamados ‘deficientes’ ou ‘atípicos’, nos quais o suposto pai é falecido ou ausente e não se dispõe de parentes suficientes para a reconstrução do genótipo do mesmo, ou nos casos em que os pretensos genitores são relacionados e possuem semelhança genética, estão entre as situações em que a utilização de 15 marcadores genéticos pode apresentar resultados inconclusivos. Até mesmo casos ‘típicos’ de investigação de paternidade podem ser inconclusivos, caso mutações sejam detectadas (Betz, 2007).

Em situações nas quais a análise de 15 marcadores é inconclusiva, torna-se necessária a inclusão de mais marcadores genéticos além dos disponíveis nos *kits* comerciais convencionais, os quais poderão aumentar o poder de discriminação permitindo, desta forma, resultados mais conclusivos. Uma estratégia para aumentar o poder de discriminação pode ser o uso conjunto dos dois principais *kits* comerciais de identificação humana (*AmpFISTR® Identifiler™* e *PowerPlex® 16*), pois desta

forma analisam-se um total de 17 STRs além da amelogenina (Abrantes *et al.*, 2006).

Ao realizar uma investigação de paternidade, diversos *loci* são analisados, verificando se houve o compartilhamento de alelos entre o filho e o suposto pai investigados. É possível confirmar a paternidade com uma probabilidade igual ou maior a 99,99% caso ocorra o compartilhamento de alelos entre filho e suposto pai em todos os *loci* analisados. É possível também se ter confirmação, mas, nesse caso, de exclusão de paternidade, quando os alelos não são compartilhados entre o filho e o suposto pai em três ou mais *loci*. Neste último caso a exclusão chega a 100% sobre a possibilidade de ser o pai biológico, ou seja, a probabilidade de paternidade é zero (AABB, 2008).

O índice de paternidade (IP) reflete a razão entre a probabilidade de que um homem com o fenótipo do possível pai (homem analisado) seja o pai biológico do indivíduo em questão e a probabilidade de que outro homem, ao acaso, possa ser o verdadeiro pai. Deve-se calcular o IP para cada *locus*, sendo que a multiplicação dos IPs individuais resulta no índice cumulativo de paternidade ou combinado (IPC). Quanto maior o IPC, maior a probabilidade de o investigado ser o pai biológico (Jobim *et al.*, 2011).

Conforme os padrões internacionais de controle de qualidade e diretrizes de órgãos especializados neste tipo de perícia, como por exemplo o Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa da *International Society for Forensic Genetics* (GHEP-ISFG) e a *American Association of Blood Banks* (AABB) com suposto pai presente (caso típico), para um laudo de investigação de paternidade ser considerado conclusivo em relação à inclusão de paternidade, os resultados obtidos através da análise dos marcadores dos cromossomos autossômicos devem fornecer um IPC igual ou superior a 10.000. Este índice indica que o indivíduo testado tem dez mil vezes mais chance de ser o pai biológico em relação a qualquer outro indivíduo da população e reflete uma Probabilidade de Paternidade (PP ou W) de 99,99% (AABB, 2008).

A identificação de paternidade, nos casos em que o suposto pai é falecido, muitas vezes sofre limitações devido à escassez de indivíduos a serem analisados. Isso se dá por vários motivos, como o falecimento de uma das partes, a falta de localização de outra, a distância geográfica entre as partes ou, ainda, por se

negarem a realizar o exame pericial. Em grande parte desses casos, surgem dúvidas sobre quem intimar para a realização dos testes de reconstrução do DNA do suposto pai (Jobim, 1996).

A investigação de paternidade, sem a presença do suposto pai, usualmente, só é realizada quando este é falecido ou quando é de destino incerto. Nesses casos, procura-se realizar a análise visando a reconstrução do genótipo do mesmo através do material genético dos parentes mais próximos com vínculo biológico (Jobim *et al.*, 2008). A reconstrução genética, quando são utilizados os parentes mais próximos do *de cujus*, é uma poderosa ferramenta na área de identificação humana, porém é sempre a segunda alternativa para realizar este tipo de exame, pois não são conhecidos os alelos do indivíduo falecido/desaparecido, mas os possíveis alelos do mesmo. Calcula-se que quanto menor o número de indivíduos disponíveis para a investigação e quanto mais distante o grau de parentesco menor será a possibilidade de reconstrução genética (Abrantes *et al.*, 2008).

1.2- A realidade da Investigação de Paternidade no Estado do RS

Em apoio às demandas judiciais gratuitas de investigação de paternidade e/ou maternidade a Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) firmou convênio no ano de 2007 com o Tribunal de Justiça do Estado do Rio Grande do Sul e a Defensoria Pública para a realização dos testes de DNA, que foram iniciados em julho de 2007.

Atualmente o Laboratório de Investigação de Paternidade (LIP) da FEPPS atende em torno de 400 casos/mês. Desta demanda, 5 a 10% dos casos o suposto pai é falecido ou encontra-se em lugar incerto (casos atípicos). Nestes casos, o objetivo é reconstruir o perfil de DNA do homem falecido, através da análise do DNA dos parentes biológicos próximos.

2. Justificativa

A fim de assegurar um maior sucesso na reconstrução do genótipo do suposto pai o LIP desenvolveu o *Manual de Colheita de Sangue: Casos Típicos e Atípicos*. Este manual descreve quais os parentes devem ser indicados para a perícia da seguinte forma:

CASOS ATÍPICOS SUPOSTO PAI FALECIDO

Os seguintes indivíduos devem colher uma amostra de sangue, a fim de assegurar uma maior confiabilidade do exame:

- *O autor (pretense filho) e sua mãe biológica, impreterivelmente. Com relação à colheita de sangue da mãe do pretense filho, proceder conforme orientação para caso típico.*
- *Parentes biológicos do falecido (por ordem decrescente de preferência):*
 - *Os dois genitores do suposto pai falecido;*
 - *Um dos genitores do suposto pai falecido, **mais** 3 (três) irmãos de mesma mãe e mesmo pai do suposto pai falecido;*
 - *Pelo menos 4 (quatro) irmãos de mesma mãe e mesmo pai do suposto pai falecido;*
 - *Três filhos **biológicos** do suposto pai falecido com suas genitoras;*
 - *Pelo menos 4 (quatro) filhos **biológicos** do suposto pai falecido de mãe diferente da do filho questionado, se esta não participar do teste.*

É obrigatório satisfazer uma dessas condições listadas acima. No caso em que um ou mais parentes listados acima não tenham comparecido ou sido intimados, não realizar a colheita de nenhuma das partes, anotando no boletim de agendamento o nome completo e o grau de parentesco da(s) pessoa(s) ausente(s). Para obter estas informações, questionar as partes presentes sobre a disponibilidade de outros parentes para a realização do exame.

Fonte: Manual de Colheita de Sangue: Casos Típicos e Atípicos.

Apesar de amplamente utilizado, nenhum estudo científico sobre estes critérios de escolha e sua ordem de preferência foi desenvolvido, todos estes critérios estão baseados nas experiências rotineiras dos diversos centros de identificação humana espalhados pelo mundo.

Uma análise científica com embasamento estatístico, levando em consideração o número de casos conclusivos e inconclusivos nas diversas conjunturas familiares nas reconstruções genéticas, seria de grande relevância para validarmos e/ou reformularmos os critérios aplicados no presente manual de colheita de sangue.

3. Objetivos

3.1- Objetivo geral

Validar o Manual de Colheita de Sangue: Casos Típicos e Atípicos.

3.2- Objetivos específicos

- Estabelecer os critérios de escolha de parentes que devem ser indicados para a perícia;
- Estabelecer a ordem de preferência em casos de reconstrução do genótipo do suposto pai falecido.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

[A ser submetido ao Forensic Science International: Genetics]

Carta ao Editor

Investigação de paternidade com suposto pai falecido ou ausente: análise do sucesso na conclusão do laudo

Caro Editor,

Este é um estudo retrospectivo de 858 casos de investigação de paternidade cujo suposto pai era falecido ou encontrava-se em lugar incerto (casos atípicos), no Rio Grande do Sul, Brasil, que foram realizados no período de 2007 a 2012 na Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS).

Nos casos nos quais o suposto pai é falecido ou ausente (SPFA) devem ser efetuados os processos de reconstrução do perfil genético do SPFA investigando-se DNA de parentes biológicos próximos ao SPFA. Para o sucesso da reconstrução do perfil do SPFA e, conseqüentemente, para o sucesso da investigação de paternidade, o ideal é que se realize a análise simultânea de DNA do pai do SPFA (pSPFA) e da mãe do SPFA (mSPFA). Essa configuração pSPFA+mSPFA será sempre informativa para a reconstrução do SPFA. Mas, nem sempre estão disponíveis dados de pSPFA e mSPFA, partindo-se, então, para análises de outros parentes do SPFA. Teoricamente, quanto mais próximos e em maior número são os parentes ao SPFA a serem investigados, maior é a taxa de sucesso da reconstrução [1]. Além disso, a taxa de sucesso da reconstrução depende do número de regiões do DNA analisadas, sendo que o aumento do número de regiões está diretamente proporcional ao aumento da taxa de sucesso na reconstrução [2]. Essas afirmações são, contudo, teóricas. Pouco se registrou sobre as porcentagens de sucesso em casos de reconstrução e sobre os critérios de escolha dos parentes a serem investigados, e/ou se há uma ordem de preferência para investigá-los ou um número mínimo.

Aqui, considerando a análise de um conjunto fixo de 17 *loci*, nós registramos a taxa de sucesso da reconstrução do perfil do SPFA dependente do vínculo de

parentesco ao SPFA dos indivíduos investigados e do número de parentes investigados.

Os perfis genéticos para investigação de paternidade dos casos estudados aqui foram obtidos através da amplificação de 17 regiões do DNA (*locus* THO1, TPOX, CSF1PO, VWA, D3S1358, FGA, D5S818, D13S317, D7S820, D8S1179, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338, D19S433, PENTA E e PENTA D) utilizando os kits AmpF ℓ STR \circledR Identifiler \circledR PCR Amplification Kit (Life Technologies Corporation) e PowerPlex \circledR 16 System (Promega Corporation) e analisados por eletroforese capilar (Applied Biosystems 3130 and 3130x1 Genetic Analyzers). A designação dos alelos e o controle de qualidade dos resultados foram realizados em um procedimento automatizado com auxílio do *software* GeneMapper, versão 3.2 (Applied Biosystems, Life Technologies Corporation).

Foi realizado um levantamento dos casos com SPFA e diversas conjunturas familiares e registrados aqui aqueles que foram conclusivos. Foram consideradas como 'sucesso reconstrução' as análises de parentes do SPFA que resultaram na emissão de um laudo conclusivo. De acordo com os dados apresentados no Annual Report Summary for Testing in 2008, nosso laboratório considera como conclusivo os laudos que obtiveram um IPC maior ou igual a 1000 (99,9% probabilidade de paternidade) ou exclusão de paternidade [3].

Um total de 858 casos com SPFA foram avaliados. Destes, 242 (28,2%) foram excluídos da análise devido à reconstrução ter sido feita através da análise simultânea de DNA do pSPFA+mSPFA, configuração que evidentemente leva ao sucesso da reconstrução. Considerando apenas o grau de parentesco ao SPFA do indivíduo incluído na investigação, nós agrupamos os demais 616 casos em cinco categorias de configuração por parentesco, que são: 1- pSPFA ou mSPFA mais irmão do SPFA (iSPFA); 2- iSPFA; 3- esposa do SPFA (eSPFA) mais filho do SPFA (fSPFA); 4- fSPFA; 5- apenas pSPFA ou mSPFA. Adicionalmente, além de considerar o grau de parentesco, nós analisamos as mesmas categorias considerando a quantidade de indivíduos aparentados ao SPFA incluídos na investigação.

Nossos resultados mostraram que, não havendo a configuração pSPFA+mSPFA disponível para a reconstrução, a taxa de sucesso foi de 73,5% (453/616), sendo que as opções com maior taxa de sucesso foram as configurações

eSPFA + 3 fSPFA, com 99% de sucesso e pSPFA ou mSPFA + 3 iSPFA, com 93.3% de sucesso (Tabela 1). As demais configurações variam suas porcentagens de sucesso e as que apresentaram mais baixas taxas foram, conforme se esperaria do ponto de vista teórico, 1 iSPFA (10,0%) e apenas pSPFA ou mSPFA (17,4%).

Um ponto relevante a ser discutido aqui é que os registros de parentesco dos indivíduos ao SPFA são feitos com base no relato verbal dos investigados. A chance de que um parentesco relatado como verdadeiro não seja realmente um parentesco biológico existe e, numa rotina de exames de paternidade com milhares de casos, esse valor em número pode ser muito significativo. Outro ponto a salientar é que nossos dados são referentes à análise de 17 *loci*. Com essa análise obtivemos 26,5% (163/616) de casos inconclusivos. Contudo, ao se retornar a cada caso inconclusivo para os 17 *loci* e se expandir a análise genética para mais *loci*, o percentual de casos inconclusivos decai. A análise expandida não foi registrada aqui por se tratar de uma análise muito particularizada de cada caso individualmente, e por não ser própria da rotina de muitos laboratórios no Brasil. Adicionalmente, chamamos à atenção ao que diz respeito aos critérios de escolha de parentes do SPFA a serem indicados para a perícia, na sua ordem de importância. Devido ao elevado custo monetário do exame de paternidade, pode-se declinar da investigação de uma quantidade elevada de parentes do SPFA se o grau de parentesco dos indivíduos for fraco.

Os dados aqui registrados podem ser norteadores para os requisitos legais numa investigação cujo pai é falecido ou ausente. Sustentamos que processo cível de investigação de paternidade deve levar esses dados em consideração. Cada processo que se abre demanda desgastes emocionais, esforços administrativos, empenho de horas de trabalho especializado e, não menos importante, elevado custo financeiro. Um longo processo que resulta inconclusivo gera a perda de todos esses investimentos. Nossos resultados confirmam que, simultaneamente, quanto mais próximos e em maior número são os parentes do SPFA a serem investigados, maior será a taxa de sucesso da reconstrução e de obtenção do laudo conclusivo. Concluímos apontando para que os setores envolvidos nos processos de investigação de paternidade primem fortemente pela inclusão adequada de parentes biológicos próximos ao SPFA ao dar início ao processo, sustentando a realização de

investigações com poucos ou mais afastados parentes do SPFA apenas nos casos onde, de fato, não houver outras opções.

Tabela 1: Casos de investigação de paternidade com suposto pai falecido ou ausente (SPFA) atendidos no Rio Grande do Sul, no período de 2007 a 2012.

Categorias	Total	Conclusivo	
		N	%
1- mSPFA ou pSPFA + iSPFA			
mSPFA ou pSPFA + 3 SPFA	45	42	93,3
mSPFA ou pSPFA + 2 iSPFA	42	35	83,3
mSPFA ou pSPFA + 1 iSPFA	31	15	48,4
2- iSPFA			
4 iSPFA	17	15	88,2
3 iSPFA	20	16	80,0
2 iSPFA	19	13	68,4
1 iSPFA	20	2	10,0
3- eSPFA + fSPFA			
eSPFA + 3 fSPFA	99	98	99,0
eSPFA + 2 fSPFA	113	104	92,0
eSPFA + 1 fSPFA	38	14	36,8
4- fSPFA			
4 fSPFA	28	22	78,6
3 fSPFA	31	26	83,9
2 fSPFA	38	31	81,6
1 fSPFA	29	12	41,4
5- mSPFA ou pSPFA	46	8	17,4
TOTAL	616	453	73,5

SPFA: suposto pai falecido ou ausente; pSPFA: pai do SPFA; mSPFA: mãe do SPFA; eSPFA*: esposa do SPFA (*trata-se de uma segunda esposa, que não a mãe do filho que busca a paternidade do SPFA); fSPFA: filho ou filha do SPFA; iSPFA: irmão ou irmã do SPFA.

Agradecimentos

Esse trabalho foi financiado pela Pontifícia Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) e pelo Laboratório de Investigação de Paternidade da Fundação de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da FEPPS.

Referências

- [1] Abrantes D, Pontes L, Pinheiro MF, Andrade M, Ferreira MAM (2008) Towards a systematic probabilistic evaluation of parentage casework in forensic genetics: A modest attempt to define a general standardized approach to simple and complex cases. *Forensic Sci Int Genet* 1:635-637
- [2] Butler, JM. Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing. *Journal of Forensic Science, American*, v. 51, n. 2, p. 253-265, 2006.
- [3] AABB: Annual report summary for testing in 2008. Available on: <http://www.aabb.org/sa/facilities/Documents/rtannrpt08.pdf>

Suelen Porto Basgalupp^a

Rodrigo Rodenbusch^{ab}

Simone Schumacher^b

Clarice Sampaio Alho^a

^aLaboratório de Genética Humana e Molecular,
Faculdade de Biociências. Av. Ipiranga, 6681,
Prédio 12 C, sala 290,
Porto Alegre- RS, Cep 90619-900, RS, Brasil

^bLaboratório de Investigação de Paternidade,
Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT),
Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS),
Av. Ipiranga, 5400, Bairro Jardim Botânico,
Porto Alegre- RS, Cep 90610-000, Brasil

Letter to the Editor

Investigation of paternity with alleged father deceased or missing: analysis of success at the end of the report

Dear Editor,

This is a retrospective study of 858 cases of paternity investigation in the state of RS, Brazil. In all cases, the alleged father was either deceased or missing (atypical cases). All cases were analyzed at the State Foundation for Health Research and Production and were from 2007 to 2012.

In cases where the alleged father was deceased or missing (AFDM) the process of reconstruction of the genetic profile was carried out investigating the DNA of close biological relatives. Ideally, reconstruction of the AFDM profile should be performed by simultaneous analysis of DNA from AFDM's father (fAFDM) and AFDM's mother (mAFDM). Although this setting fAFDM + mAFDM is very informative for the reconstruction, data of fAFDM and mAFDM are not commonly available. The alternative is to analyze other relatives of the AFDM. In theory, the analyses of a higher number of close relatives of the AFDM and a greater number of DNA regions increase the chances of having a better success rate of the reconstruction [1,2]. Only a few studies reported the percentages of success in cases of reconstruction and little is known about the criteria to select the relatives to be investigated. Also, there is almost no information about a minimum number of relatives to be investigated and the order to analyze them.

Considering the analysis of 17 DNA *loci*, we present here a success rate of reconstruction of AFDM's profile dependent on the number of relatives investigated and on their kinship to the AFDM.

The genetic profiles were obtained by amplification of 17 DNA regions (*locus* TH01, TPOX, CSF1PO, VWA, D3S1358, FGA, D5S818, D13S317, D7S820, D8S1179, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338, D19S433, Penta E and Penta D) using AmpF \mathbb{L} STR \mathbb{R} Identifiler \mathbb{R} PCR Amplification Kit (Life Technologies Corporation) and Powerplex \mathbb{R} 16 System (Promega Corporation) and were analyzed using Automatic Sequencer ABI 3130 and 3130xl (Applied Biosystems, Foster, CA., USA).

The designation of alleles and results quality control were performed GeneMapper, software version 3.2 (Applied Biosystems, Foster, CA., USA).

We conducted a survey of cases with AFDM and several familiar conjunctures. It was considered as a 'successful reconstruction' the analyses of AFDM's relatives that resulted in a conclusive final report. According to the data presented in the Annual Report Summary for Testing in 2008, our group considered as conclusive the reports that presented a CPI equal or higher to 1000 (99.9% probability of paternity) or paternity exclusion [3].

A total of 858 cases with AFDM were evaluated. 242 cases (28.2%) were excluded from the analysis since the genetic reconstruction was performed by simultaneous analysis of DNA from fAFDM and mAFDM; a configuration that leads to the success of reconstruction of the genotype of the supposed father. The remaining cases were divided into five categories, considering only the level of kinship of the individual to the AFDM. The categories are: 1- fAFDM or mAFDM plus siblings of AFDM (sAFDM); 2- sAFDM; 3- wife of AFDM (wAFDM) plus the child of AFDM (cAFDM); 4- cAFDM; 5- only fAFDM or only mAFDM. Additionally, the same categories were analyzed considering the amount of related individuals of the AFDM.

The results showed that in the absence of configuration fAFDM + mAFDM, the success rate of the reconstruction was 73.5% (453/616). The highest success rates were obtained with the configurations of fAFDM or mAFDM + 3 sAFDM (93.3%) and wAFDM + 3 cAFDM (99%) (Table 1). The lowest rates were observed for the configuration of 1 sAFDM (10.0%) and only fAFDM or only mAFDM (17.4%). An important point to be discussed is that the records of kinship to the AFDM are based on the verbal report of the subjects investigated. In paternity cases, there is a chance that a kinship reported as true might not be a real biological one, and in a Paternity Laboratory, performing thousands of cases, the number of this type of case can be significative. It is also important to highlight that our data refer to the analysis of 17 *loci*. The results showed 26.5% (163/616) of inconclusive cases. However, when the cases were re-analyzed using more than 17 *loci*, the percentage of inconclusive cases declined. Additionally, we call attention to the criteria of choosing the AFDM relatives, and their order of importance. Due to the high cost of the paternity test, not all relatives are investigated, especially if the level of kinship is weak.

The data reported here may guide the legal requirements for an investigation where the father is deceased or missing. The civil procedure of paternity investigation should take these data into consideration. Every requested process not only triggers emotional distress, but also demands administrative efforts, commitment of skilled professionals and high financial cost. A long process that generates inconclusive results leads to the loss of all these investments. Our results confirm that the higher the number of relatives analyzed and the closer they are to the AFDM, the greater the success rate of reconstruction. Consequently, the number of conclusive final reports is increased. Based on the results reported in this study, our group strongly recommends that in the process of paternity investigation, priority is given to the inclusion of close biological relatives to the AFDM. The inclusion of distant relatives should only happen in cases where, in fact, there are no other options.

Table 1: Cases of a paternity dispute with alleged father deceased or missing (Rio Grande do Sul, 2007 to 2012).

Categories	Total	Conclusive	
		N	%
1- mAFDM or fAFDM + sAFDM			
mAFDM or fAFDM + 3 sAFDM	45	42	93.3
mAFDM or fAFDM + 2 sAFDM	42	35	83.3
mAFDM or fAFDM + 1 sAFDM	31	15	48.4
2- sAFDM			
4 sAFDM	17	15	88.2
3 sAFDM	20	16	80.0
2 sAFDM	19	13	68.4
1 sAFDM	20	2	10.0
3- wAFDM + cAFDM			
wAFDM + 3 cAFDM	99	98	99.0
wAFDM + 2 cAFDM	113	104	92.0
wAFDM + 1 cAFDM	38	14	36.8
4- cAFDM			
4 cAFDM	28	22	78.6
3 cAFDM	31	26	83.9
2 cAFDM	38	31	81.6
1 cAFDM	29	12	41.4
5- mAFDM or fAFDM	46	8	17.4
TOTAL	616	453	73.5

AFDM: alleged father deceased or missing; fAFDM: father of the AFDM; mAFDM: mother of the AFDM; wAFDM *: wife of the AFDM (* this is a second wife, not the mother of the child who seeks the paternity of the AFDM); cAFDM: child of the AFDM; sAFDM: siblings of the AFDM.

Acknowledgments

This work was supported by Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) and Paternity Testing Laboratory of Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS). The project was approved by the Ethics Committee of FEPPS. We thank Deborah Soares Bispo Santos Silva for reviewing the english language.

References

- [1] Abrantes D, Pontes L, Pinheiro MF, Andrade M, Ferreira MAM (2008) Towards a systematic probabilistic evaluation of parentage casework in forensic genetics: A modest attempt to define a general standardized approach to simple and complex cases. *Forensic Sci Int Genet* 1:635-637
- [2] Butler, JM. Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing. *Journal of Forensic Science, American*, v. 51, n. 2, p. 253-265, 2006.
- [3] AABB: Annual report summary for testing in 2008. Available on: <http://www.aabb.org/sa/facilities/Documents/rtannrpt08.pdf>

Suelen Porto Basgalupp^a

Rodrigo Rodenbusch^{ab}

Simone Schumacher^b

Clarice Sampaio Alho^a

^aLaboratório de Genética Humana e Molecular,
Faculdade de Biociências. Av. Ipiranga, 6681,
Prédio 12 C, sala 290,
Porto Alegre- RS, Cep 90619-900, RS, Brazil

^bLaboratório de Investigação de Paternidade,
Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT),
Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS),
Av. Ipiranga, 5400, Bairro Jardim Botânico,
Porto Alegre- RS, Cep 90610-000, Brazil

5. Referências

Abrantes D, Pontes L, Lima G, Cainé L, Pereira MJ, Matos P, Pinheiro MF. Complex paternity investigations: The need for more genetic information. *International Congress Series*, v. 1288, p. 465– 467, 2006.

Abrantes D, Pontes L, Pinheiro MF, Andrade M, Ferreira MAM. Towards a systematic probabilistic evaluation of parentage casework in forensic genetics: A modest attempt to define a general standardized approach to simple and complex cases. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1*, p.635-637, 2008.

American Association of Blood Banks (AABB), Annual report summary for testing in 2008: Prepared by the Relationship Testing Program Unit: <http://www.aabb.org/sa/facilities/Documents/rtannrpt08.pdf>

Betz T, Immel UD, Kleiber M, Klitschar M. “Paterniplex”, a highly discriminative decaplex STR multiplex tailored for investigating special problems in paternity testing. *Electrophoresis, Goettingen*, v.28, n.21, p. 3868–3874, 2007.

Butler, JM. *Forensic DNA Typing: Biology, Tecnology and Genetics of STR Markers*. 2. ed. USA: Elsevier Academic Press, 2005.

Butler, JM. Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing. *Journal of Forensic Science, American*, v. 51, n. 2, p. 253-265, 2006.

Dolinski, LC, Pereira LMCV. DNA Forense. *Revista Saúde Ambiente*; 2:11-22, 2007.

Figini, ARL, Silva JRL, Jobim LF, Silva M. Identificação Humana. Campinas: Millenium, p. 256-257, 2003.

Gill P, Werrett DJ, Budowle B, Guerrieri R. An assessment of whether SNPs will replace STRs in national DNA databases--joint considerations of the DNA working group of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) and the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM). *Sci Justice* 44:51-53, 2004.

Grubic Z, Stingl K, Cecuk JE, Zunec R, Serventi SR, Labar B, Rajic LJ, Brkljacic KV. Evaluation of mixed chimerism in bone marrow transplantation program in Croatia. *Transplant Proc*, 37: 1388-91, 2005.

Grubwieser P, Zimmermann B, Niederstatter H, Pavlic M, Steinlechner M, Parson W. Evaluation of an extended set of 15 candidate STR loci for paternity and kinship analysis in an Austrian population sample. *Int J Legal Med*, 121(2):85-89, 2007.

Jeffreys AJ.; Wilson V, Thein SL. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*, v. 314, p. 67-73, 1985a.

Jobim, LF. *et al.* Perícias médicas em investigação de paternidade pelos principais sistemas genéticos. *Revista do Hospital das Clínicas de Porto Alegre*, n. 16. Porto Alegre: HCPA, 1996.

Jobim LF, Costa LR, da Silva M. Identificação Humana – Identificação Médico Legal, Perícias Odontológicas, Identificação Humana pelo DNA. 2ª Ed., 2011.

Jobim MR, Ewald G, Wilson MJ, Chamum B, Jobim LF. Novos testes de DNA na Investigação de Paternidade com suposto pai falecido. *RT/ Fasc. Civ.*, v.874, p. 55-69, 2008.

Marques, EK. Diagnóstico Genético-Molecular, Ed. Ulbra, 2003.

Mayntz-press K, Ballantyne J. Performance characteristics of commercial Y-STR multiplex systems. *Journal of Forensic Sciences*, n. 52. West Conshohocken: ASTM Internacional, 2007.

Pena SDJ. Segurança Pública: determinação de identidade genética pelo DNA. *Parcerias Estratégicas*, v. 20, p. 447-460, 2005.

Phillips C, Fernandez-Formoso L, Garcia-Magariños M, Porras L, Tvedebrink T, Amigo J, *et al.*: Analysis of global variability in 15 established and 5 new European Standard Set (ESS) STRs using the CEPH human genome diversity panel. *Forensic Sci Int Genet*, 5: 155–169, 2011.

Rapley R, Whitehouse D. *Molecular Forensics*. West Sussex: Wiley, pp. 91-126, 2007.

Wonder, AY. *Bloodstain Pattern Evidence: Objective Approaches and Case Applications*. San Diego: Elsevier Academic Press, 377 p., 2007.

6. ANEXOS

ANEXO 1

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA DE APLICAÇÃO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

JUSTIFICATIVA DA NÃO UTILIZAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Eu, Suelen Porto Basgalupp, pesquisador principal do projeto “**Validação do Manual de Coleta do Laboratório de Investigação de Paternidade-CDCT-FEPPS: Casos Atípicos**”, informo a este Comitê de Ética em Pesquisa a dispensa da utilização do **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** para realização deste projeto tendo em vista que o mesmo utilizará somente dados secundários obtidos a partir do estudo de material já coletado para fins diagnósticos e da revisão de prontuários com as informações referentes aos pacientes.

Nestes termos, me comprometo a cumprir todas as diretrizes e normas reguladoras descritas na Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução nº 251 de 05 de agosto de 1997, referentes às informações obtidas com Projeto.

Porto Alegre, 10 de Maio de 2012.

Suelen Porto Basgalupp

ANEXO 2



Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul
Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde
Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE

INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE

GUIA DE ORIENTAÇÃO PARA COLHEITA DE SANGUE

CASOS TÍPICOS

CASOS ATÍPICOS



Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – FEPPS
Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CDCT
LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE - LIP

Av. Ipiranga, 5400 – 3º andar – Bairro Jardim Botânico
90610-000 - Porto Alegre - RS
Telefone: (51) 3288-4028 - 3352-0336
email: paternidade@fepps.rs.gov.br

Este Guia de Orientação foi desenvolvido pela equipe técnica do Laboratório de Investigação de Paternidade do CDCT/FEPPS

Setembro de 2010 – 4ª versão

Não é permitida a reprodução total ou parcial sem autorização expressa do CDCT/FEPPS.

Instruções de Colheita de Sangue

CASOS TÍPICOS – SUPOSTO PAI VIVO

Nestes casos devem ser seguidos os seguintes procedimentos:

1. Recebimento da documentação

- Verificar se as partes presentes são as mesmas que constam nos documentos oficiais. Não fazer nenhuma anotação no Ofício recebido do Poder Judiciário, apenas no boletim de agendamento. Quando o nome da mãe não estiver completo, preencher no boletim conforme o documento apresentado, salientando que é necessário comparar o nome da mesma com o nome que consta no documento do filho. Proceder da mesma forma quando o nome de qualquer uma das partes não estiver completo.
- O responsável pelo recebimento da documentação deve identificar as partes, preferencialmente através da carteira de identidade ou de algum documento com foto. Se alguma das partes não apresentar nenhum dos documentos citados ou o nome que consta no documento for diferente do nome citado no ofício, a colheita somente será permitida se acompanhada da “Declaração de Reconhecimento” (Anexo I) assinada pela parte que fez o reconhecimento e autorizou a realização da colheita de sangue.
- Uma cópia do documento apresentado pelos periciandos deve ser anexada à “Autorização para a colheita de material biológico”, bem como o ofício do Juiz que foi previamente enviado pela FEPPS.

- Para o preenchimento do boletim de agendamento, uma vez constatada a presença das partes do caso, marcar com um “X” o comparecimento da pessoa intimada. Caso contrário, marcar o não comparecimento da parte intimada, se transcorrida uma hora após o horário estipulado. Esse boletim deverá ser encaminhado juntamente com a documentação à FEPPS.
- Caso uma das partes intimadas se negar a fazer a colheita de material biológico, o perito deve descrever esta situação no boletim de agendamento e solicitar a assinatura da parte que se negou a realizar o exame.

2. Preenchimento da “Autorização para colheita de material biológico – Casos Típicos”

A “Autorização para colheita de material biológico” deve ser preenchida somente quando TODAS as partes estiverem presentes.

- Utilizar o modelo **“Autorização para colheita de material biológico – Casos Típicos”**.
- Os campos referentes aos dados dos periciandos devem ser preenchidos com os nomes, os números de registro e as datas de nascimento, tais como constam nos documentos de identidade apresentados.
- Obrigatoriamente, devem ser preenchidos na “Autorização para colheita de material biológico” o número do processo e a comarca em que está registrado. Nas unidades do interior não há

necessidade de preenchimento do número do laudo e do número da amostra.

- No final da “Autorização para colheita de material biológico”, devem ser preenchidos o nome do responsável (perito designado pela FEPPS), a data e a assinatura (**não abreviar nomes**).
- Todas as partes devem assinar a “Autorização para colheita de material biológico”. Esta assinatura representa a autorização para a realização do exame de DNA.
- **Menores de 18 anos (mãe, filho e suposto pai):** os responsáveis legais destes devem **assinar** o documento de “Autorização para colheita de material biológico” e fornecer uma cópia do documento de identificação para ser anexada ao restante da documentação. A perícia não deve ser realizada sem a presença e assinatura dos responsáveis legais.
- Nos casos em que uma das partes não tenha registro civil, preencher o campo “Número do documento apresentado” com a denominação “sem registro civil”.
- Indivíduos não alfabetizados devem deixar a impressão datiloscópica do polegar direito registrado no espaço destinado à assinatura (usar “almofada” de carimbo).
- Deve-se evitar que indivíduos que não foram convocados para a colheita entrem na sala onde se realizará a perícia. Advogados somente serão aceitos na sala de colheita se ambas as partes concordarem. Peritos extra-oficiais poderão participar da perícia somente por ordem judicial.

3. Preenchimento do cartão FTA com o nome dos envolvidos

A colheita de sangue dentro dos círculos do cartão FTA deve ser preenchida da seguinte forma, **obedecendo ao sentido horário**:

Mãe: nome da mãe, precedido pela sigla "**M**"

Filho: nome do filho, precedido pela sigla "**E**"

Suposto Pai: nome do suposto pai, precedido pela sigla "**SP**"

Quando houver mais de um filho, usa-se a sigla F1 para o filho mais velho, F2 para o seguinte e assim sucessivamente. Quando houver mais de um suposto pai, usa-se a sigla SP1 para o suposto pai que registrou o filho e SP2 para o outro indivíduo. Nos casos em que não há pai registral, usa-se o mesmo critério de idade: SP1 para o suposto pai mais velho, SP2 para o seguinte e assim sucessivamente. Nos casos de investigação de maternidade utilizar a sigla "**SM**" para a suposta mãe; havendo mais de uma suposta mãe, utilizar o mesmo critério acima.

O cartão FTA, já com os nomes preenchidos, deve ser apresentado às partes no momento da colheita de sangue para que estes verifiquem se os nomes estão corretos (orientações detalhadas sobre o procedimento de colheita de sangue em cartão FTA constam em anexo II).

4. Solicitação de informações aos periciandos

Os seguintes questionamentos devem ser feitos aos periciandos no momento da entrevista inicial:

- Se alguém foi submetido a uma transfusão de sangue nos últimos 90 dias;
- Se alguém foi submetido a transplante de medula óssea;
- Se há algum grau de parentesco entre as partes.

Respostas positivas a qualquer uma das perguntas acima não impedem a colheita, porém devem ser devidamente anotadas no campo "Observações" da "Autorização para colheita de material biológico".

5. Informações dadas aos Periciandos

As seguintes informações devem ser fornecidas aos periciandos:

- O laudo será encaminhado diretamente para o Tribunal de Justiça ou Defensoria Pública do Estado em aproximadamente 30 dias.
- O teste é seguro, uma vez que o DNA é único de cada indivíduo.
- Se houver questionamento sobre a necessidade de se colher uma amostra de sangue da mãe, deve ser dada a informação de que o DNA materno contém informações importantes para a elucidação do caso.

6. Ausência de uma das partes

Em caso de ausência de uma das partes, os presentes devem aguardar durante uma hora a chegada da parte então ausente, a contar da hora marcada. Terminado este prazo, o responsável pela colheita deve anotar o nome e o grau de parentesco dos indivíduos que compareceram à colheita no boletim de agendamento enviado pelo Tribunal de Justiça ou pela Defensoria Pública, para que estas informações sejam posteriormente enviadas ao juiz.

É obrigatória a colheita de sangue da mãe do pretense filho, mesmo que esta não tenha sido intimada, pois as informações contidas no material genético desta são de fundamental importância para a análise do caso. A colheita somente será dispensada nos casos onde a mãe é falecida ou encontra-se em lugar incerto. Estas informações devem, obrigatoriamente, constar no ofício do juiz ou no boletim de agendamento. A colheita da mãe também será dispensada nos casos em que ela é falecida e houver comprovação através de cópia do atestado de óbito, que deverá ser anexada junto à documentação solicitada. Se estas condições não forem preenchidas, não realizar a colheita de nenhuma das partes. Anotar no boletim o nome da mãe ausente para que seja intimada numa próxima vez.

Nos casos de investigação de maternidade, caso o pretense filho seja registrado com o nome do pai, as mesmas regras acima devem ser aplicadas, sendo obrigatória a sua presença.

7. Remessa das amostras

Os cartões devem ser encaminhados juntamente com toda a documentação dentro de um envelope de segurança fornecido pela FEPPS

no prazo máximo de 01 dia útil após a colheita. O endereço de envio já está impresso no envelope fornecido.

CASOS ATÍPICOS

SUPOSTO PAI FALECIDO

Nestes casos, o objetivo é reconstituir o perfil de DNA do homem falecido, através da análise do DNA dos parentes biológicos próximos.

Os seguintes indivíduos devem colher uma amostra de sangue, a fim de assegurar uma maior confiabilidade do exame:

- O autor (pretense filho) e sua mãe biológica*, impreterivelmente.
- Parentes biológicos do falecido (por ordem decrescente de preferência):
 - Os dois genitores do suposto pai falecido;
 - Um dos genitores do suposto pai falecido, **mais** 3 (três) irmãos de mesma mãe e mesmo pai do suposto pai falecido;
 - Pelo menos 4 (quatro) irmãos de mesma mãe e mesmo pai do suposto pai falecido;
 - Três filhos **biológicos** do suposto pai falecido com sua(s) genitora(s)**;
 - *Pelo menos 4 (quatro) filhos **biológicos** do suposto pai falecido de mãe diferente do filho questionado, se esta não participar do teste.*

* É obrigatória a colheita de sangue da mãe do pretense filho, ainda que a mesma não tenha sido intimada, pois as informações contidas no material genético desta são de fundamental importância para a análise do caso. A colheita somente será dispensada nos casos em que a mãe é falecida ou encontra-se em lugar incerto. Estas informações devem, obrigatoriamente, constar no ofício do juiz ou no boletim de agendamento

A colheita da mãe também será dispensada nos casos em que ela é falecida e houver comprovação através de cópia do atestado de óbito, que deverá ser anexada junto à documentação solicitada. Se estas condições não forem preenchidas, não realizar a colheita de nenhuma das partes. Anotar no boletim o nome da mãe ausente para que seja intimada numa próxima vez.

Nos casos de investigação de maternidade, se o pretense filho for registrado com o nome do pai, as mesmas regras acima devem ser aplicadas, sendo obrigatória a sua presença.

**** Ainda que a(s) esposa(s) – mãe(s) dos filhos biológicos do suposto pai falecido – não possua(m) vínculo genético com o mesmo, a análise do material genético desta(s) é fundamental. Sabe-se que metade do material genético é herdada do pai biológico e a outra metade é herdada da mãe e, sendo assim, através da análise do genótipo da(s) esposa(s), será possível identificar os alelos paternos obrigatórios dos filhos biológicos, aumentando a possibilidade da reconstituição genética. A colheita somente será dispensada nos casos em que a mãe dos filhos biológicos é falecida ou encontra-se em lugar incerto. Estas informações devem, obrigatoriamente, constar no ofício do juiz ou no boletim de agendamento. A colheita da mãe dos filhos biológicos também será dispensada nos casos em que ela é falecida e houver comprovação através de cópia do atestado de óbito, que deverá ser anexada junto à documentação solicitada. Se estas condições não forem preenchidas, não realizar a colheita de nenhuma das partes.**

É obrigatório satisfazer uma das condições listadas acima, **observando os critérios de prioridade**. No caso de não existirem outros parentes disponíveis, proceder à colheita dos que foram intimados, anexando à documentação a “Declaração de Ausência de Familiares” (Anexo III) assinada por um dos periciados representante do espólio.

No caso em que um ou mais parentes listados acima não tenham comparecido ou não tenham sido intimados, não realizar a colheita de nenhuma das partes, preenchendo a “Declaração de Existência de Familiares” (Anexo IV) com o nome completo, o grau de parentesco e provável localização da(s) pessoa(s) ausente(s). Esta declaração deve ser assinada por um dos parentes biológicos que representam o espólio. Para

obter estas informações, questionar as partes presentes sobre a disponibilidade de outros parentes para a realização do exame.

Nos casos onde foram intimados parentes biológicos a mais do que os relacionados acima, realizar a colheita dos mesmos. Caso algum deles não compareça, mas uma das condições acima seja satisfeita com os que estão presentes, proceder a colheita, seguindo a ordem decrescente de preferência.

Os seguintes procedimentos devem ser seguidos nas colheitas:

1. Recebimento da documentação

- Conferir se as partes presentes são as mesmas que constam nos documentos oficiais. Não fazer nenhuma anotação no ofício do Juiz, apenas no boletim de agendamento. Quando o nome da mãe não estiver completo, preencher no boletim conforme o documento apresentado, salientando que é necessário comparar o nome da mesma com o nome que consta no documento do filho. Proceder da mesma forma quando o nome de qualquer uma das partes não estiver completo.
- O responsável pelo recebimento da documentação deve identificar as partes, preferencialmente através da carteira de identidade ou de algum documento com foto. Se alguma das partes não apresentar nenhum dos documentos citados ou o nome que consta no documento for diferente do nome citado no ofício, a colheita somente será permitida se acompanhada da "Declaração de Reconhecimento" (Anexo I) assinada pela parte que fez o reconhecimento e autorizou a realização da colheita de sangue.
- Uma cópia do documento oficial apresentado pelos periciandos deve ser anexada à autorização de colheita, bem como o ofício do juiz que foi previamente enviado pela FEPPS.

- Para o preenchimento do boletim de agendamento, uma vez constatada a presença das partes do caso, marcar com um "X" o comparecimento da pessoa intimada. Caso contrário, marcar o não comparecimento da parte intimada, se transcorrida uma hora após o horário estipulado. Esse boletim deverá ser encaminhado juntamente com a documentação a FEPPS.
- Caso uma das partes intimadas se negar a fazer a colheita de material biológico, o perito deve descrever esta situação no boletim de agendamento e solicitar a assinatura da parte que se negou a realizar o exame.

2. Preenchimento da "Autorização para colheita de material biológico" - "Casos Atípicos"

A "Autorização para colheita de material biológico" deve ser preenchida somente quando TODAS as partes intimadas estiverem presentes.

- Utilizar o modelo "**Autorização para colheita de material biológico – Casos Atípicos**".
- O campo "Espólio" deve ser preenchido com o nome do suposto pai falecido.
- Os campos referentes aos dados dos periciandos devem ser preenchidos com os nomes, os números de registro e as datas de nascimento tais como constam nos documentos de identidade apresentados.

- Após os nomes das partes, devem ser preenchidos os campos “Grau de parentesco” e “Código” de cada indivíduo no exame, conforme a tabela de nomenclatura abaixo; considerar sempre a relação de parentesco do indivíduo com o suposto pai já falecido.

Grau de parentesco	CÓDIGO
Mãe do suposto pai	MSP
Pai do suposto pai	PSP
Irmão biológico do suposto pai	ISP
Filho biológico do suposto pai	FSP
Esposa do suposto pai	ESP
Sobrinho do suposto pai	SSP
Esposa do irmão do suposto pai	EISP
Neto do suposto pai	NSP
Esposa do Filho do suposto pai	EFSP

Para qualquer categoria acima, deve-se obedecer ao critério de numeração identificando o mais velho como número 1 (FSP1, SP1, por exemplo) e assim sucessivamente. Quando houver mais de um suposto pai, usa-se o código SP1 para o suposto pai que registrou o filho e SP2 para outro. Nos casos de Investigação de Maternidade em que a suposta mãe é falecida, utilizar as mesmas regras e códigos, alterando-se apenas para suposta mãe (MSP para mãe do suposto pai, MSM para mãe da suposta mãe, por exemplo).

- Obrigatoriamente, devem ser preenchidos na “Autorização para colheita de material biológico” o número do processo e a comarca em que está registrado. Nas unidades do interior, não há necessidade do preenchimento do número do laudo e do número da amostra.

- Preencher os nomes das partes conforme escrito no documento oficial, indicar o número de registro e a data de nascimento.
- No final da “Autorização para colheita de material biológico” devem ser preenchidos o nome do responsável (perito designado pela FEPPS), a data e a assinatura (**não abreviar nomes**).
- Todas as partes devem assinar a “Autorização para colheita de material biológico”. Essa assinatura representa a autorização para a realização do exame de DNA.
- **Menores de 18 anos (mãe, filho ou representantes do espólio):** os responsáveis legais destes devem **assinar** o documento de “Autorização para colheita de material biológico” e fornecer uma cópia do documento de identificação para ser anexada ao restante da documentação. A perícia não deve ser realizada sem a presença e assinatura dos responsáveis legais.
- Nos casos em que uma das partes não tenha registro civil, identificar na “Autorização para colheita de material biológico”, ao lado do nome, “sem registro civil”.
- Indivíduos não alfabetizados devem deixar a impressão digital do polegar direito registrado no espaço destinado à assinatura (usar “almofada” de carimbo).
- Deve-se evitar que indivíduos que não foram convocados para a colheita entrem na sala onde se realizará a perícia. Advogados somente serão aceitos na sala de colheita se ambas as partes concordarem. Peritos extra-oficiais poderão participar da perícia somente por ordem judicial.

3. Preenchimento do cartão FTA com o nome dos envolvidos

O cartão FTA deve ser preenchido conforme a tabela de nomenclatura já citada.

O cartão FTA já com os nomes preenchidos deve ser apresentado às partes no momento da colheita, para que estes verifiquem se os nomes estão corretos (orientações detalhadas sobre os procedimentos de colheita de sangue em cartão FTA constam em anexo II).

4. Informações solicitadas dos periciandos

Os seguintes questionamentos devem ser feitos aos periciandos no momento da entrevista inicial:

- Se alguém foi submetido à transfusão de sangue nos últimos 90 dias;
- Se alguém foi submetido a transplante de medula óssea;
- Se há algum grau de parentesco entre as partes.

Respostas positivas a qualquer uma das perguntas acima não impedem a colheita, porém devem ser devidamente anotadas no campo "Observações" da "Autorização para colheita de material biológico".

5. Informações dadas aos periciandos

- O laudo será encaminhado diretamente para o Tribunal de Justiça ou Defensoria Pública, em aproximadamente 60 dias;
- O teste é seguro, uma vez que o DNA é único de cada indivíduo;
- Se houver questionamento sobre a necessidade de colheita de todos os indivíduos oficiados, é importante salientar para os presentes que, quanto mais indivíduos parentes de primeiro grau do falecido colherem, mais informativo ficará o exame, conseqüentemente maior será a confiabilidade do resultado.

6. Ausência das partes

Em caso de ausência de uma das partes, os presentes devem aguardar durante uma hora a chegada da parte então ausente, a contar da hora marcada. Terminado este prazo, o Perito deve questionar as partes presentes sobre a disponibilidade de outros parentes para a realização do exame e preencher a “Declaração de Existência de Familiares” (Anexo IV) com o nome completo, o grau de parentesco e provável localização da(s) pessoa(s) ausente(s). Esta declaração deve ser assinada por um dos parentes biológicos que representam o espólio e anexada ao boletim de agendamento para que estas informações sejam posteriormente enviadas ao juiz.

7. Remessa das amostras

Os cartões devem ser encaminhados juntamente com toda a documentação dentro de um envelope de segurança fornecido pela FEPPS no prazo máximo de 01 dia útil após a colheita. O endereço de envio já está impresso no envelope fornecido.

ANEXO I

Nº Processo: _____

Data: _____

EXAME DE INVESTIGAÇÃO DE PATERNIDADE - DNA **DECLARAÇÃO DE RECONHECIMENTO**

(A ser preenchida pela parte envolvida no caso que reconhece fisicamente a OUTRA pessoa que está sem documento ou está com documento sem fotografia, autorizando a realização do exame).

Eu, _____, venho por meio deste, declarar que reconheço _____ como parte integrante do caso de investigação de paternidade e autorizo que a colheita seja realizada.

Situação:

- () Periciado não trouxe documento.
- () Periciado trouxe documento sem fotografia.
- () Nome do periciado diferente do citado no ofício.

Assinatura da parte que fez o reconhecimento e autorizou a realização da colheita de sangue

ANEXO II

INSTRUÇÕES DE COLHEITA DE SANGUE EM CARTÃO FTA COM O AUXÍLIO DE UM LANCETADOR PROFISSIONAL

1. Não há necessidade das pessoas envolvidas estarem em jejum.
2. Prepare os itens necessários para fazer a colheita de sangue:
 - Lancetas esterilizadas descartáveis;
 - Recipiente com álcool a 70%;
 - Pacote de algodão ou gaze esterilizada;
 - Micropore ou esparadrapo;
 - Cartões FTA (papel filtro) preenchidos com os nomes das partes. Os círculos deverão conter o código do periciando do lado de fora (veja figura abaixo);
 - Envelope comum de carta para armazenar o cartão FTA;
 - Luvas de procedimento;
 - Ficha de "Autorização para colheita" preenchida pelo responsável.
 - Lancetador SoftclixPro;
3. Lavar as mãos e praticar assepsia (com algodão ou gaze embebido em álcool a 70%) no dedo indicador ou anelar do periciando. No caso de crianças menores de um ano, deve ser feita punção no calcanhar.
4. Faça uma leve massagem no dedo ou no calcanhar, se for bebê, para concentrar a circulação de sangue.
5. Selecionar a graduação da pressão do lancetador (1. Pele do bebê, 2. Pele normal de adulto e 3. Pele grossa).
6. Inserir uma lanceta *SoftclixPro* estéril no lancetador na frente dos periciandos. A base irá travar e fechar na posição adequada.

7. Após, retirar a tampa de proteção da lanceta.

8. Pressione a ponta do lancetador levemente sobre a superfície lateral do dedo do periciando e aperte o botão de disparo da lanceta. O mesmo procedimento vale para colheita no calcanhar de bebês.

9. Pingue aproximadamente 3 gotas de sangue imediatamente dentro do círculo do papel filtro, de acordo com a ordem estabelecida nesse manual. Procure **NÃO** pingar uma gota sobre a outra. Não há necessidade de preencher toda a circunferência do círculo com sangue.

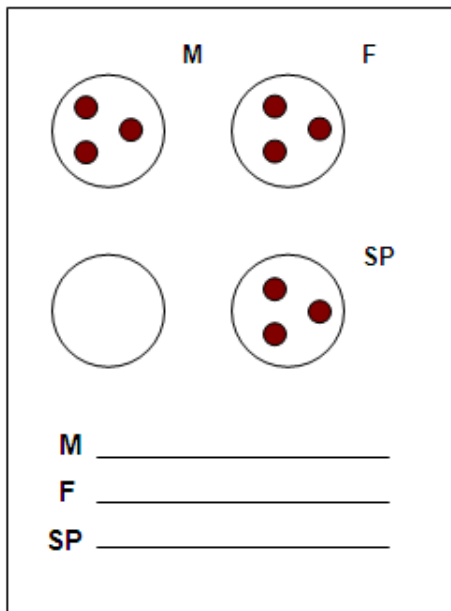
10. Só utilizar mais de um cartão FTA para o mesmo caso quando o número de periciandos for maior que quatro indivíduos. Se não, utilizar somente um cartão FTA, seguindo o sentido horário (conforme o modelo abaixo).

11. Descartar a lanceta, segurando o lancetador *SoftclixPro* sobre um recipiente de descarte adequado e apertando o botão de expulsão da lanceta.

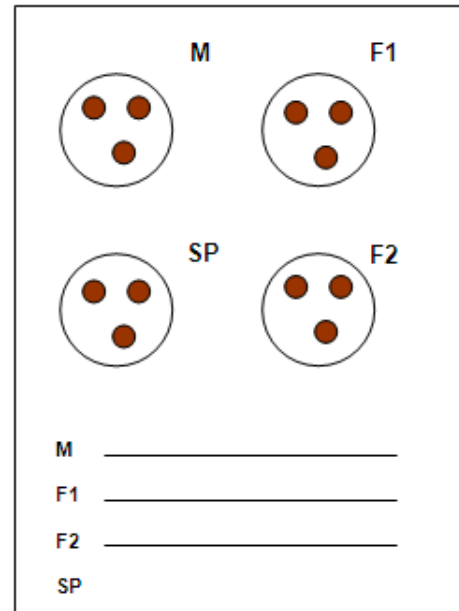
12. Esperar secar o cartão por 15 minutos e guardá-lo em um envelope "tipo carta".

13. O envelope contendo o cartão FTA, juntamente com a autorização de colheita assinada, xerox dos documentos e o boletim de agendamento, devem ser colocados em um envelope de segurança.

MODELO DE APLICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SANGUE EM CARTÃO FTA



CASOS COM TRÊS INDIVÍDUOS



CASOS COM QUATRO OU MAIS INDIVÍDUOS

**Aplicação das amostras
em sentido horário**

ANEXO III

Nº processo:

Data:

Exame de investigação de paternidade – DNA CASOS ATÍPICOS

Declaração de Ausência de Familiares

(A ser preenchida por um dos representantes do espólio envolvido no caso).

Eu, _____,
venho por meio deste, declarar que não existem mais
parentes biológicos vivos que representam o espólio de
_____.

*Assinatura de um dos
representantes*

ANEXO IV

Nº processo:

Data:

Exame de investigação de paternidade - DNA CASOS ATÍPICOS Declaração de Existência de Familiares

(A ser preenchida por um dos representantes do espólio envolvido no caso).

Eu, _____,
venho por meio deste, declarar que existem mais parentes
biológicos vivos que representam o espólio de

abaixo relacionados.

NOME COMPLETO	GRAU DE PARENTESCO	LOCALIZAÇÃO

*Assinatura de um dos
representantes*