



GRUPO DE HABLA ESPAÑOLA Y PORTUGUESA DE LA ISFG

GRUPO DE LÍNGUAS ESPANHOLA E PORTUGUESA DA ISFG

Instituto Nacional de Toxicología
y Ciencias Forenses

MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA JUSTICIA Y RELACIONES CON LAS CORTES
SERVICIO DE GARANTÍA DE CALIDAD
DEPARTAMENTO DE MADRID
C/ José Echegaray nº 4 - 28232 Las Rozas de Madrid (Madrid)
Tf. +34 91 7688919
e-mail: intcf.eiadm@justicia.es

ENSAIO DE APTIDÃO
“ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE DNA EM MANCHAS DE SANGUE E OUTRAS
AMOSTRAS BIOLÓGICAS”

NIVEL BÁSICO**EXERCÍCIO EIADN- 34 (2026)****DATA LIMITE: 15/05/2026****Itens enviados****2026/Módulo de Parentesco****M1 a M3: itens de referência****2026/Módulo Forense****M4: item forense desconhecido****M5: cabelo ou pêlo**

Nº de selo

Abordagem proposta:**2026/Módulo de Parentesco - Nivel básico****Estudo prático de parentesco**

- **M1, M2, M3:** itens de referência para análise genética.

Estudo teórico de parentesco

Solicita-se a resolução do caso teórico apresentado.

2026/Módulo Forense - Nivel básico**Estudo prático forense**

- **M4:** item forense para análise genética.
 - **M5:** cabelo ou pêlo para análise de DNA mitocondrial.
- ♦ Estabeleça a natureza do componente ou dos possíveis componentes do item M4.
 - ♦ Poderia ter contribuído ao item M4 algum dos dadores dos itens de referência M1, M2, M3?

Estudo teórico forense

Solicita-se a resolução do caso teórico apresentado.

Metodologia a empregar

A investigação será realizada com os marcadores e métodos que o laboratório escolha e que habitualmente usa na rotina ou no ponto de entrar em rotina. Os itens devem ser tratados como amostras laboratoriais de rotina e, se possível, de forma cega.

O Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses é o titular da acreditação***As actividades marcadas não estão cobertas pela acreditação de ENAC**

ÍNDICE

Pág.

1. Metodologia	
1.1. Extracção, purificação/concentração e quantificação de DNA	3
1.2. Metodologia STR	
1.2.1. Metodologia de kits multiplex	3
1.2.2. Outra metodologia para marcadores STR autossómicos e amelogenina	4
1.2.3. Outra metodologia para marcadores Y-STR	4
1.2.4. Outra metodologia para marcadores X-STR	4
1.3. Metodologia DNA mitocondrial	
1.3.1. Parâmetros de amplificação	4
1.3.2. Parâmetros de sequenciação e edição	5
1.4. Metodologia para identificação de fluídos no item M4	5
1.5. Outros aspectos da metodologia diferentes dos indicados nas tabelas anteriores	5
2. Resultados estudos práticos	
2.1. Resultados STR	
2.1.1. STR autossómicos e amelogenina	6
2.1.2. Y-STR	7
2.1.3. X-STR	8
2.2. Resultados de DNA mitocondrial	8
3. Conclusões estudos práticos	
3.1. Módulo de Parentesco	
3.1.1. Observações para os itens M1, M2 e M3	9
3.2. Módulo Forense	
3.2.1. Pergunta 1	9
3.2.2. Pergunta 2	9
3.2.3. Pergunta 3	9
3.2.4. Observações para os itens M4 e M5	9
4. Estudos teóricos	
4.1. Estudo teórico de Parentesco	10
4.2. Estudo teórico Forense	12
5. Observações ao presente exercício	16
6. Sugestões para o próximo exercício	16
7. Compromissos do participante	16
Data e assinatura do responsável	16
Pedido do certificado	16

1. Metodologia *Leia atentamente as instruções proporcionadas antes de preencher esta secção***1.1 Extracção, purificação/concentração e quantificação de DNA**

TABELA 1

Item	Lise diferencial (Sim ou Não)	Extracção Purificação/ Concentração (Código)	EP00 (Especificar)	Quantificação (Código)	C00 (Especificar)
M1					
M2					
M3					
M4					
M5					

Codificação no Anexo 2026

1.2 Metodologia STR**1.2.1 Metodologia de kits multiplex**

TABELA 2A (Kits multiplex)

Se utiliza um kit não incluído na tabela, adicione-o nas últimas linhas.

Multiplex	Indicar 'SIM' se foi utilizado	Deteção (Código)	D00 (Especificar)
FFFL (Promega)			
PowerPlex 16/16 HS (Promega)			
PowerPlex ESI 16 (Promega)			
PowerPlex ESX 16 (Promega)			
PowerPlex ESI 17 (Promega)			
PowerPlex ESX 17 (Promega)			
PowerPlex 18D (Promega)			
Profiler Plus (AB)			
SGM Plus (AB)			
Identifiler (AB)			
Identifiler Plus (AB)			
Identifiler Direct (AB)			
NGM (AB)			
NGM SElect (AB)			
MiniFiler (AB)			
Investigator ESSplex (Qiagen)			
Investigator ESSplex SE (Qiagen)			
Investigator IDplex (Qiagen)			
YFiler (AB)			
PowerPlex Y (Promega)			
Argus X-8 (Biotype)			
Investigator Argus X-12 (Qiagen)			
XSTR-Decaplex GHEP (Gusmão)			
PowerPlex CS7 (Promega)			
Profiler (AB)			
Investigator Argus Y-12 (Qiagen)			
SEfiler (AB)			
PowerPlex 23Y (Promega)			
PowerPlex Fusion System (Promega)			

Multiplex	Indicar 'SIM' se foi utilizado	Deteção (Código)	D00 (Especificar)
Global Filer (AB)			
PowerPlex 21 (Promega)			
Investigator 24plex QS (Qiagen)			
PowerPlex Fusion 6C System (Promega)			
Verifiler (AB)			
YFiler plus (AB)			
Investigator ESSplex plus (Qiagen)			
Investigator ESSplex Plus SE(Qiagen)			
Investigator IDplex Plus (Qiagen)			
Investigator HDplex (Qiagen)			
Investigator Argus X-12 QS (Qiagen)			

Codificação no Anexo 2026

1.2.2 Outra metodologia para marcadores STR autossômicos e amelogenina

TABELA 2B

No caso de não usar kits multiplex ou usar marcadores STR autossômicos adicionais, indique o número de marcadores e os *primers* usados, bem como o método de detecção.

Número de marcadores	Primer/Ladder (código)	PL00 (Especificar)	Deteção (Código)	D00 (Especificar)

Codificação no Anexo 2026

1.2.3 Outra metodologia para marcadores Y-STR

TABELA 2C

No caso de não usar kits multiplex ou usar marcadores Y-STR adicionais, indique o número de marcadores e os *primers* usados, bem como o método de detecção.

Número de marcadores	Primer/Ladder (código)	PL00 (Especificar)	Deteção (Código)	D00 (Especificar)

Codificação no Anexo 2026

1.2.4 Outra metodologia para marcadores X-STR

TABELA 2D

No caso de não usar kits multiplex ou usar marcadores X-STR adicionais, indique o número de marcadores e os *primers* usados, bem como o método de detecção.

Número de marcadores	Primer/Ladder (código)	PL00 (Especificar)	Deteção (Código)	D00 (Especificar)

Codificação no Anexo 2026

1.3 Metodologia DNA mitocondrial

1.3.1 Parâmetros de amplificação

TABELA 3

Indique o par de *primers* em cada campo, nomeando-os de acordo com a cadeia (L ou H) e posição em 3' (Ex: L15997/H00619).

Pares de <i>primers</i> de amplificação					Nº de ciclos
Item	Forward/Reverse	Forward/Reverse	Forward/Reverse	Forward/Reverse	
M1-M3					
M4					
M5					

1.3.2 Parâmetros de sequenciação e edição

TABELA 4

Item	PU	QS	PE	S	SE
M1-M3					
M4					
M5					

Codificação no Anexo 2026

1.4 Metodologia para identificação de fluidos no item M4

TABELA 5

Indique o método usado para confirmar ou investigar a presença de fluidos biológicos no item M4. Especifique o código do método utilizado e o resultado (negativo, positivo ou inconclusivo). Se indicar 'Outros', especifique.

Item	Método (Código)	Outros (Especificar)	Resultado (Negativo/Positivo/Inconclusivo)	Observações

Codificação no Anexo 2026

1.5 Outros aspectos da metodologia diferentes dos indicados nas tabelas anteriores

--

2. Resultados estudos práticos:

Leia atentamente as instruções enviadas para preencher as tabelas de resultados, e as bases de participação para conhecer o estabelecimento dos valores atribuídos e a avaliação dos resultados
<https://ghep-isfg.org/pt/proficiency/participation>

2.1 Resultados STR

TODOS OS PARTICIPANTES DEVEM PREENCHER OBRIGATORIAMENTE A COLUNA DOS ALELOS TOTAIS DETECTADOS INDEPENDENTEMENTE DO SISTEMA DE EXTRACÇÃO QUE UTILIZEM. As colunas da 1ª e 2ª fracção são adicionais e opcionais, caso o laboratório tenha realizado a lise diferencial e queira indicar o seu resultado.

2.1.1 STR autossómicos e amelogenina

TABELA 6A

MÓDULO DE PARENTESCO				MÓDULO FORENSE		
MARCADOR	M1	M2	M3	M4		
				Alelos totais detectados Ex: 9-11-15-17	1ª fracção Ex: 9-17	2ª fracção Ex: 11-15
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						
FGA						
Penta D						
Penta E						
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
SE33						
FES/FPS						
F13A01						
F13B						
LPL						
Penta C						
D6S1043						

2.1.2 Y-STR

TABELA 6B

MÓDULO DE PARENTESCO				MÓDULO FORENSE		
MARCADOR	M1	M2	M3	M4		
				Alelos totais detectados Ex: 13-15	1ª fracção Ex: 15	2ª fracção Ex: 13
DYS456						
DYS389 I						
DYS390						
DYS389 II						
DYS458						
DYS19						
DYS385						
DYS393						
DYS391						
DYS439 (GATA A4)						
DYS635 (GATA C4)						
DYS392						
GATAH4						
DYS437						
DYS438						
DYS448						
DYS460 (GATA A7.1)						
DYS461 (GATA A7.2)						
GATAA10						
DYS388						
DYS576						
DYS481						
DYS549						
DYS533						
DYS570						
DYS643						
DYS627						
DYS518						
DYS449						
DYF387S1						

2.1.3 X-STR

TABELA 6C

MÓDULO DE PARENTESCO				MÓDULO FORENSE		
MARCADOR	M1	M2	M3	M4		
				Alelos totais detectados Ex: 12-15-17-20	1ª fracção Ex:12-15	2ª fracção Ex:17-20
HPRTB						
DXS8378						
DXS9898						
DXS7133						
GATA31E08						
GATA172D05						
DXS7423						
DXS6809						
DXS7132						
DXS9902						
DXS6789						
DXS10103						
DXS10134						
DXS10074						
DXS10101						
DXS10135						
DXS10146						
DXS10079						
DXS10148						

2.2 Resultados de DNA mitocondrial

Na Tabela 7A, indique as posições inicial e final das regiões editadas e na Tabela 7B, informe os haplótipos seguindo a ordem solicitada nas instruções.

TABELA 7A

ITENS		REGIÕES EDITADAS
MÓDULO PARENTESCO		
M1		
M2		
M3		
MÓDULO FORENSE		
M4	1ª fracção	
	2ª fracção	
Cabelo ou pêlo		
M5		

TABELA 7B

ITENS		HAPLÓTIPO
MÓDULO PARENTESCO		
M1		
M2		
M3		
MÓDULO FORENSE		
M4	1ª fracção	
	2ª fracção	
Cabelo ou pêlo M5		

3. Conclusões estudos práticos

3.1 Módulo de Parentesco

3.1.1 *Observações relativas aos itens M1, M2 y M3

Indique os comentários e observações que deseja fazer em relação aos itens analisados. Relembra-se que apenas é solicitada a análise genética dos itens de referência M1 a M3; não é necessário investigar relações de parentesco entre eles.

3.2 Módulo Forense

3.2.1 Estabeleça a natureza do componente ou possíveis componentes do item M4.

Componentes (marque com um X o componente ou componentes detectados)

	Sangue	Sémen	Saliva
M4	☐	☐	☐

3.2.2 Indique o número mínimo de contribuintes detectados no item M4.

	1	2	3
M4	☐	☐	☐

3.2.3 Poderia ter contribuído para o item M4 algum dos dadores dos itens de referência M1, M2, M3?

	M1	M2	M3
M4	☐	☐	☐

3.2.4 *Observações relativas aos itens M4 e M5.

4. Estudos Teóricos

Leia atentamente as instruções enviadas para preencher as tabelas de resultados, e as bases de participação para conhecer o estabelecimento dos valores atribuídos e a avaliação dos resultados
<https://ghep-isfg.org/pt/proficiency/participation>

Para a resolução dos estudos teóricos (parentesco e forense) assume-se que:

- a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg e não há necessidade de fazer correcções pela existência de sub-estruturação populacional ($t_{\text{eta}}=0$).
- a taxa de alelos silenciosos e a taxa de mutação é 0.
- correcção drop in, drop out= 0

Os cálculos devem ser efectuados recorrendo à tabela "Frequências alélicas 2026" fornecida.

4.1 Estudo teórico de Parentesco

4.1.1 Exposição do problema

Alberto Jr. afirma ser filho de um empresário de renome, o Sr. Alberto, já falecido. A sua mãe, a Sra. Pilar, trabalhou durante muitos anos como secretária da empresa e foi despedida quando engravidou do filho do empresário. Ainda assim, o empresário continuou a pagar pensão de alimentos até Alberto Jr. atingir a maioridade.

O juiz considerou haver provas suficientes para aceitar o processo de paternidade e ordenou um teste de ADN. O corpo do alegado pai tinha sido cremado, mas estava disponível um bloco de parafina (FFPE) de uma biópsia da artéria coronária realizada no hospital antes do seu falecimento. Um perfil genético foi obtido a partir do bloco de parafina.

- O perfil genético da Sra. Pilar (mãe do Alberto Jr.) está disponível. Não há dúvidas de que é a sua mãe biológica.
- O perfil genético de Alberto Jr. está disponível.
- Está disponível um perfil genético parcial obtido a partir da amostra de FFPE (Sr. Alberto, pretensão pai).

Marcadores	Sra. Pilar	Alberto Jr.	Pretensão pai (FFPE)
D3S1358	15	14-15	14-16
D1S1656	12-15	12	12-18.3
D2S441	11-13	11-14	10-14
D10S1248	15	15	
D13S317	8-14	8-9	
D16S539	11-12	11-12	9-11
D18S51	13-17	14-17	12-14
D2S1338	19-23	17-19	
Penta D	10-15	10-15	12-15
TH01	7-9	7-8	8-9.3
VWA	15-18	18-19	17-19
D21S11	31.2-32	29-32	28-29
D8S1179	13-14	12-13	12-14
D19S433	13-16	13-15.2	14-15.2
D22S1045	14-15	14-16	15-16
FGA	19-26	21-26	
AMELOGENINA	X	X-Y	X-Y

4.1.2 Índice de paternidade

Solicita-se o cálculo do índice de paternidade considerando as seguintes hipóteses:

H0	O Sr. Alberto é o pai de Alberto Jr., tendo em conta que a Sra. Pilar é a mãe biológica.
H1	Outro indivíduo retirado ao acaso da população e geneticamente não relacionado com o Sr. Alberto é o pai biológico de Alberto Jr., tendo em conta que a Sra. Pilar é a mãe biológica.

Indique os Índices de paternidade parciais e o IP total na Tabela 8.

Utilize notação científica (formato Excel) aplicando arredondamento com 4 casas decimais. Ex. 1,2346E-01

TABELA 8

Marcadores	IP
D3S1358	
D1S1656	
D2S441	
D10S1248	
D13S317	
D16S539	
D18S51	
D2S1338	
Penta D	
TH01	
VWA	
D21S11	
D8S1179	
D19S433	
D22S1045	
FGA	
TOTAL IP	

4.1.3 Programa(s) informático(s) utilizados para os cálculos estatísticos.

Programa	Versão	Observações (outros programas, comentários, etc)
Famílias		
DNA view		
PatPCR		
BDGen		
PatCan		
Genética Forense Final		
Software próprio ¹		

Programa	Versão	Observações (outros programas, comentários, etc)
Outros ¹ .		

¹Se não encontra o programa informático na tabela, escolha "Outros" e indique-o nas "Observações"

4.1.4 Cálculo manual. Fórmulas utilizadas

No caso do seu laboratório ter realizado todos os cálculos manualmente, indique as fórmulas utilizadas na **Tabela 9**

TABELA 9

Marcadores	IP
D3S1358	
D1S1656	
D2S441	
D10S1248	
D13S317	
D16S539	
D18S51	
D2S1338	
Penta D	
TH01	
VWA	
D21S11	
D8S1179	
D19S433	
D22S1045	
FGA	
IP TOTAL	

4.1.5 * Conclusões e observações sobre o estudo teórico de parentesco.

--

4.2 Estudo teórico Forense.

4.2.1 Exposição do problema

Uma jovem portadora de necessidades especiais reportou uma violência sexual perpetrada por vários indivíduos. Ela declara que o seu namorado (com quem ela nunca havia mantido relações sexuais), um irmão dele e um primo de ambos (do namorado e do seu irmão) participaram da agressão. A partir do exame no hospital, é realizado um lavado vaginal em que se obtém um perfil genético de mistura da vítima e de um homem.

O namorado (N), o irmão (H) e o primo deles (P) são detidos. Amostras biológicas de referência são coletadas. Uma amostra de DNA de referência da vítima também está disponível. Os perfis genéticos correspondentes são obtidos a partir das amostras em causa.

Determinar qual dos três homens é compatível com o perfil genético da mistura e, com base nele, calcular a razão de verossimilhança (LR).

Marcadores	Perfil genético de mistura do lavado vaginal	Vítima (V)	Namorado (N)	Irmão do namorado (H)	Primo de ambos (P)
D3S1358	15-16	15-16	15-16	15-16	15-16
D1S1656	11-15-16-18.3	15-16	12-18.3	11-18.3	16-17.3
D2S441	11-14-15	14-15	10-11	11	10-11
D10S1248	13-15	13	13-15	15	13-15
D13S317	9-12-13	12-13	8	9-13	11-13
Penta E	5-12-13-14	5-14	12-13	12-13	13-17
D16S539	9-11-13	9-11	9-12	9-13	9-13
D18S51	14-15-16	14	15	15-16	14
D2S1338	17-19-20-24	19-24	17-20	17-20	20-24
CSF1PO	10-11-12	11	9-10	10-12	11
Penta D	9-13-15	9-13	9-10	9-15	9-16
TH01	6-7-9.3	6-9.3	6-7	6-7	6-9.3
vWA	17-18-19	18-19	18	17-19	15-17
D21S11	29-30.2-32.2-33.2	29-32.2	30-33.2	30.2-33.2	28-31.2
D7S820	8-10-11-12	8-10	11-12	11-12	8-10
D5S818	9-10-11	10	9-12	9-11	7-14
TPOX	8-10-12	10-12	8-11	8-12	8-9
D8S1179	12-13-15-16	12-13	12-14	15-16	14-15
D12S391	15-17.3-18	15-18	18-20	17.3-18	18
D19S433	13-14-14.2-16.2	14.2-16.2	14	13-14	13-14
SE33	14-15-16-19	15-16	11-17	14-19	15.2-20
D22S1045	14-15-16	14-15	15-16	15-16	16
FGA	19-21-22-23	19-22	21-23	21-23	21
Amelogenina	X-Y	X	X-Y	X-Y	X-Y

4.2.2 Valor de LR

Indique na **Tabela 10** os índices parciais da razão de máxima verossimilhança (LR), bem como o LR total, com base nas seguintes hipóteses:

H0	A vítima e o suspeito (N, H ou P) contribuíram para o perfil genético da mistura obtida do lavado vaginal.
H1	A vítima e uma pessoa desconhecida, selecionada aleatoriamente da população e sem vínculo genético com os anteriores, contribuíram para o perfil genético da mistura.

Indique se um destes indivíduos do sexo masculino está presente no perfil genético de mistura *

Namorado (N)		Irmão do namorado (H)		Primo de ambos (P)	
--------------	--	-----------------------	--	--------------------	--

TABELA 10

Use notação científica (formato Excel) aplicando arredondamento com 4 casas decimais. Ex. 1,2346E-01

Marcadores	LR
D3S1358	
D1S1656	
D2S441	
D10S1248	
D13S317	
Penta E	
D16S539	
D18S51	
D2S1338	
CSF1PO	
Penta D	
TH01	
vWA	
D21S11	
D7S820	
D5S818	
TPOX	
D8S1179	
D12S391	
D19S433	
SE33	
D22S1045	
FGA	
LR Total	

4.2.3 Programa(s) informático(s) utilizados para os cálculos estatísticos.

Programa	Versão	Observações (outros programas, comentários, etc.)
LRmix Studio		
LR mezcla v.inteligente		
EuroForMix		
DNAMix		
Genética Forense Final		
Software próprio		
DNA view		

Programa	Versão	Observações (outros programas, comentários, etc.)
Outros²		

²Se não encontra o programa informático na tabela, escolha "Outros" e indique-o nas "Observações"

4.2.4 Cálculo manual. Fórmulas utilizadas

No caso de ter efectuado os cálculos unicamente de forma manual, indique as fórmulas utilizadas na Tabela 11.

TABELA 11

Marcadores	LR
D3S1358	
D1S1656	
D2S441	
D10S1248	
D13S317	
Penta E	
D16S539	
D18S51	
D2S1338	
CSF1PO	
Penta D	
TH01	
vWA	
D21S11	
D7S820	
D5S818	
TPOX	
D8S1179	
D12S391	
D19S433	
SE33	
D22S1045	
FGA	
LR Total	

4.2.5* Conclusões

Emita uma conclusão sobre os resultados obtidos.

--

5. Observações ao presente exercício**6. Sugestões para o próximo exercício****7. Compromissos do participante**

As análises, tanto na obtenção dos resultados como no seu tratamento estatístico, foram realizadas nas instalações pertencentes ao laboratório inscrito e pelos seus técnicos/peritos, por meio de procedimentos de trabalho similares aos observados em amostras de rotina e foram adoptadas as medidas apropriadas de Higiene e Segurança. **De acordo com o consentimento dado pelos dadores, o laboratório compromete-se a analisar os itens de forma anónima para o Exercício de Intercomparação do INTCFM/GHEP-ISFG e adicionalmente utilizá-los como material de referência e/ou controle de qualidade laboratorial, seja com as técnicas requeridas no Exercício ou com outras de uso forense, mas em qualquer caso sempre para fins de identificação humana, analisando regiões não codificantes ou que não fornecem informações sensíveis do dador: doenças, patologias ou outro tipo de informação genética que possa violar sua privacidade.**

Nome do responsável

Data e assinatura

QUER RECEBER O CERTIFICADO DE AVALIAÇÃO?

Módulo de Parentesco (Nível Básico) (Sim/Não)	Módulo Forense (Nível Básico) (Sim/Não)

ESCOLHA O IDIOMA DO CERTIFICADO ESPANHOL ☐
INGLÊS ☐
AMBOS ☐

Nota.- Para receber o certificado de avaliação é obrigatório o envio deste formulário assinado.