

Teste de Paternidade

Escrito originalmente por [Hongbao Ma](mailto:hongbao@msu.edu) (hongbao@msu.edu), et all.

Adaptado pela equipa da Código ADN (www.testepaternidade.pt) à realidade portuguesa e aos serviços de paternidade disponibilizados em Portugal, sempre que necessário.

As adaptações (realizadas em grande número por todo o artigo), eventuais omissões do artigo original ou «*acréscimos*», por vezes, não são evidenciadas durante a escrita do artigo. Para consultar o original, em inglês visite o seguinte link:

<http://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/0204/12-0205-mahongbao-am.pdf>

A estrutura do artigo também foi modificada.

Consulte sempre fontes independentes, se encontrar alguma imprecisão durante a leitura do artigo, por favor envie-nos um email para info@codigoadn.pt, com o assunto, revisão documento teste de paternidade.

Resumo: O teste de paternidade pode ser realizado por métodos mais antigos, incluindo a [tipagem de grupo sanguíneo ABO](#), análise de várias proteínas e enzimas ou usando antígeno leucocitário humano (HLA). No entanto, o teste de DNA tornou-se o único método exato para o teste de paternidade. Através de uma amostra colhida na boca, realizada com zaragatoas na parede interna da bochecha é possível determinar a paternidade.

Através desta colheita é possível obter o perfil genético de forma rápida e confidencial da criança e suposto pai com uma probabilidade / precisão dos resultados superior a 99,999%. Os resultados de um exame de paternidade de DNA, ficam disponíveis em média de 5-7 dias úteis a partir da receção das amostras, na maioria dos laboratórios. A colheita das células da boca com uma zaragatoa «*cotonete*» na parede interna da bochecha pode ser feito imediatamente após o nascimento e, normalmente, participa no exame a criança e o suposto pai. Os resultados excluem com 100% de certeza ou confirmam o pai biológico com uma taxa de acerto superior a 99,999%.

Palavras-chave: ácido desoxirribonucleico (DNA); maternidade; paternidade; reação em cadeia da polimerase (PCR); teste de ADN.

Abreviaturas: DNA, ácido desoxirribonucleico; HLA, antígeno leucocitário humano; PCR, reação em cadeia da polimerase; RFLP, polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição; Fator Rh, fator rhesus; RNA, ácido ribonucleico; STR, repetição curta em tandem.

Termos equivalentes: Teste de ADN, teste de DNA, teste de paternidade de DNA, DNA e ADN, exame de paternidade, ou outros com a devidas variações. Todos os termos anteriores referem-se normalmente ao tema relacionado com os testes de paternidade.

Locus, Sondas, Sistema(s) ou Marcador(es) genético(s), estes termos referem-se ao fragmento específico que se encontra no gene, são utilizados os quatro termos para o mesmo significado.

Imagens: Todas as imagens presentes no artigo foram introduzidas pela equipa da Código ADN, para um melhor entendimento por parte do leitor.

Introdução

Os resultados dos testes de paternidade, presentes em jornais científicos pode ser consultado até 1956 (Henningsen, 1956).

Um teste de paternidade tem como objetivo final determinar a paternidade, ou seja, se um homem é o pai biológico de outra pessoa. Da mesma forma, um teste de maternidade pode ser feito para provar se uma mulher é a mãe biológica de outra pessoa.

O teste de maternidade é menos comum, pois pelo menos durante o parto, exceto no caso de uma gravidez envolvendo a transferência de um embrião ou doação de óvulos, é óbvio quem é a mãe. Porém, o teste de maternidade pode ser útil em reuniões familiares, quando a mãe está há muito tempo sem qualquer tipo de contacto com o filho(a), e no reencontro, realizam o exame para confirmação. Porém, a técnica de paternidade e maternidade é a mesma. Todas as “técnicas” para a realização do teste de paternidade descritas neste artigo são aplicadas ao teste de maternidade, algumas também poderão ser aplicadas ou outras relações complexas familiares, como teste de DNA com irmãos, avós, tios ou primos.

O teste de paternidade pode ser realizado por 3 métodos diferentes, os métodos mais antigos, incluindo tipagem do grupo sanguíneo ABO [1] ou a análise de várias proteínas e enzimas usando antígeno leucocitário humano (HLA) [2]. Contudo, atualmente o método mais utilizado é o teste de DNA [3], este é o método mais confiável para se estabelecer a paternidade até aos dias de hoje (Jolly, 2000).

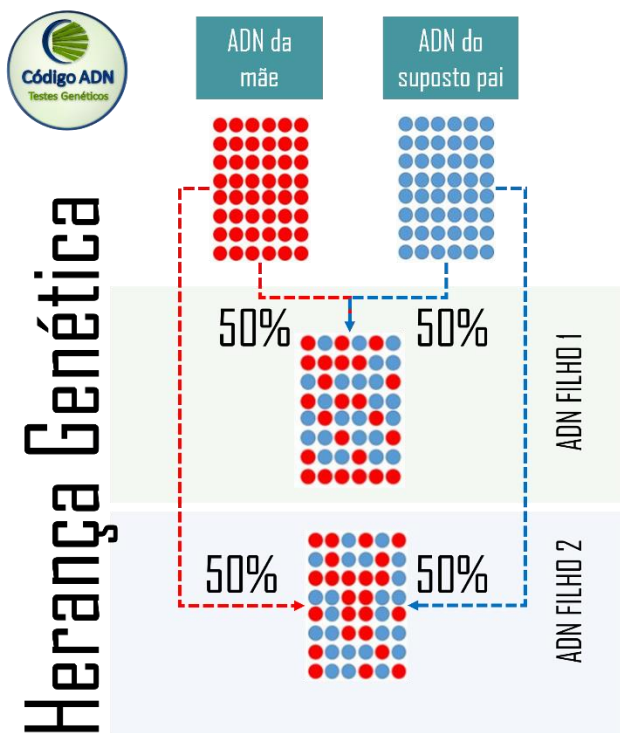
[1] Relativamente à tipagem ou tipo de sangue esta «descreve» as características individuais dos glóbulos vermelhos devido a substâncias (carboidratos e proteínas) na membrana celular. As duas classificações mais importantes para descrever os tipos de sangue em humanos, são o ABO e fator Rhesus (fator Rh) (Apostolopoulos, 2002).

*não mencionado no artigo original - Se pretender fazer um cálculo rápido usando a tipagem do sangue, basta

consultar a calculadora de DNA online, tenha em atenção que os resultados devem ser utilizados unicamente para fins lúdicos. Consulte o seguinte link: <https://www.testepaternidade.pt/dna-online/>

[2] Por sua vez, o teste HLA é um teste que deteta antígenos nos glóbulos brancos. Existem quatro tipos de HLAs: HLA-A, HLA-B, HLA-C e HLA-D. O teste HLA fornece evidências da tipagem de compatibilidade do tecido de recetores e dadores de tecido. Também auxilia no aconselhamento genético e nos testes de paternidade. O HLA é uma substância localizada na superfície das células brancas do sangue. Esta substância desempenha um papel importante na resposta imunológica do corpo. Como os HLAs são essenciais para a imunidade, a identificação auxilia na determinação do grau de compatibilidade do tecido entre recetores de transplantes e dadores. O teste é feito para diminuir a probabilidade de rejeição após o transplante e evitar a doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD) após órgão ou osso principal serem transplantados. **O HLA pode ajudar nos testes de exclusão de paternidade.** Para resolver os casos de disputa de paternidade, um homem que demonstra um fenótipo (dois haplótipos: um do pai e um da mãe) e se verifica a ausência do haplótipo idêntico ao da criança, este é excluído como pai. Por outro lado, um homem que tem um haplótipo idêntico ao da criança **pode ser** o pai (a probabilidade varia com o aparecimento desse haplótipo específico na população). Certos tipos de HLA têm sido associados a doenças, como artrite reumatoide, esclerose múltipla, lúpus eritematoso sérico e outras doenças autoimunes. Por si só, no entanto, nenhum dos tipos de HLA é considerado definitivo. Como o significado clínico de muitos dos antígenos marcadores ainda não foi bem definido, o diagnóstico definitivo da doença é obtido pelo uso de testes mais específicos. Para se realizar o teste HLA é necessária uma amostra de sangue. Os riscos para este teste são mínimos, mas podem incluir um leve sangramento no local da colheita de sangue, desmaios ou tontura após a punção venosa ou hematoma. O teste HLA na determinação da paternidade é para identificar antígenos leucocitários específicos, HLA-A, HLA-B, HLA-C e HLA-D (Schonemann, 1998).

[3] O DNA de uma pessoa é quase exatamente o mesmo em cada célula somática dessa pessoa. A reprodução sexual reúne o DNA de ambos os pais aleatoriamente para criar uma combinação única de material genético numa nova célula, de modo que o material genético de um indivíduo é derivado da combinação do material genético de ambos os pais.



* herança genética herdada pelos filhos de um casal.
** como se pode observar na imagem, apesar de ambos os filhos herdarem 50% de ADN de cada progenitor, a herança é aleatória. Observe na imagem que ambos os filhos têm o mesmo número de bolas vermelhas e azuis, mas em posições diferentes. A título de curiosidade, pense em dois irmãos, com exceção dos gémeos “verdadeiros”, estes não são iguais. Apesar de herdarem a mesma quantidade de ADN dos pais, herdaram em posições diferentes do seu genoma.

O material genético está localizado no núcleo. Exceto alguns genes localizados na mitocôndria que vêm do óvulo da mãe, metade dos genes de uma pessoa vêm da sua mãe que se localizam em 23 cromossomas e a outra metade dos genes vêm do seu pai que se localizam nos outros 23 cromossomas. Comparar a sequência de DNA de uma pessoa com a de outra pode mostrar se existe uma herança genética ou não. São amplificadas sequências específicas para aferir se foram

copiadas de um genoma do indivíduo (suposto pai) para o outro (alegado filho) (Henry, 1993). Além do DNA nuclear, as mitocôndrias nas células também têm seu próprio material genético denominado genoma mitocondrial. A Mitocôndria não está no DNA nuclear e é herdado apenas da mãe. Por isso, provar uma relação baseada na comparação do genoma mitocondrial é muito mais fácil do que baseada no genoma nuclear. No entanto, testar o genoma mitocondrial só pode provar se dois indivíduos são relacionados por descendência comum através de linhas maternas e não pode ser usado num teste de paternidade (Wenk, 2004; Eyre-Walker, 2001).

A Meta-análise de uma ampla variedade de estudos genéticos conclui aparentemente que as **taxas de não paternidade na população em geral são da ordem de 4% a mais de 30%**, dependendo do grupo social envolvido.

**não mencionado no artigo original* – Muitos destes estudos não são executados com o rigor necessário. Por exemplo, se apenas analisarmos a taxa de exames negativos (em que o pai é excluído como pai da criança) num dado laboratório, rapidamente se conclui que, em cada 100 testes de paternidade 30 desses testes resulta numa exclusão.

Contudo, não pode ser ignorado que quem avança para um exame de paternidade já tem fortes razões de uma potencial infidelidade da sua parceira ou sérias dúvidas da paternidade, por isso, não se pode extrapolar os 30% da exclusão da paternidade para a população em geral. Analisando apenas e só a percentagem de exames negativos (não inclusivos da paternidade) nos laboratórios, conclui-se que em cada 100 homens que pensam que não são os pais da criança, 30 dos homens têm razão, 70 deles não têm razão.

Os estudos mais abrangentes, apontam para uma taxa real de 5% a 10% da população, em que o seu pai de registo «pai que cria a criança» não é o pai biológico.

Questões legais nos testes de paternidade

Muitos países têm restrições / regulamentações relativamente aos testes de genética humana. A título de exemplo, no Reino Unido não houve restrições aos testes de paternidade até que o Human Tissue Act entrou em vigor em setembro de 2006. A Seção 45 do Reino Unido declara que é crime possuir, sem o devido consentimento,

qualquer material corporal humano com a intenção de analisá-lo. No Reino Unido, os pais legalmente registados podem requerer os serviços de teste de paternidade de acordo com os novos regulamentos, desde que seja o pai de registo a participar no exame. Por vezes, os testes são ordenados por tribunais quando é necessário fazer prova da paternidade. Nos Estados Unidos, há menos regulamentação para o teste de paternidade e há muitas empresas a oferecerem estes serviços, inclusive estes exames são vendidos nas parafarmácias dos supermercados. Na Europa a legislação depende do país em que se encontra. Em Portugal os testes de paternidade são regulados Lei 45/2004, 19 de agosto de 2004 e Lei 12/2005, 26 de janeiro de 2005.

**não mencionado no artigo original, para mais informações e os artigos mais importantes da lei acima basta consultar o link:*
<https://www.testepaternidade.pt/legislacao-teste-de-paternidade-em-portugal/>

Em todo o mundo, existe requisitos para os testes de paternidade e legislação para a execução destes exames, consulte a legislação ou um advogado antes de avançar com o exame de paternidade.

DNA

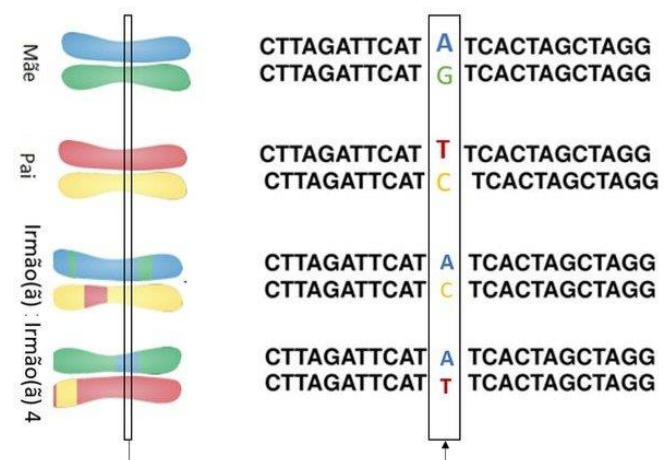
1. DNA é a abreviatura de ácido desoxirribonucleico.
2. É o material genético básico contido em todas as células vivas do corpo.
3. O DNA governa a estrutura e a função de todos os componentes do corpo.
4. Todos temos um padrão único de DNA, exceto gêmeos geneticamente idênticos «verdadeiros».
5. Como indivíduos, metade da "característica" do nosso DNA é herdada da mãe biológica e a outra metade do pai biológico.

Genes

O corpo humano consiste em trilhões de células. A maioria dessas células tem um núcleo (algumas células não têm núcleo, como as plaquetas). O núcleo contém genes que são as unidades funcionais da hereditariedade. Os genes existem nos cromossomas. Existem 46 cromossomas dentro de cada célula de um corpo humano normal, que

compõe 23 pares e cada par possui 2 cromossomas. 23 desses cromossomas são herdados do pai biológico e os outros 23 herdados da mãe biológica. Os cromossomas são nomeados por uma letra "D" seguida por um número (por exemplo, o cromossoma # 1 é denominado D1 e o cromossoma # 2 é denominado D2). Os genes são nomeados pelo número do cromossoma e pela localização que os genes ocupam no cromossoma. Um relatório de teste de parentesco de DNA identifica os genes que são analisados durante o processo do teste. Por exemplo, quando os resultados se referem a D2S44, o gene analisado está no cromossoma # 2 no locus «posição» 44. Todos os genes humanos foram determinados pelo Projeto Genoma Mundial e a estrutura do gene e a sequência de DNA podem ser verificadas no GenBank, (GenBank, 2006).

Vinte e seis letras do alfabeto são as unidades básicas da língua inglesa. Todas as palavras e frases em inglês são formadas por essas 26 letras. Os genes, por outro lado, são formados a partir de apenas 4 substâncias químicas ou bases. Essas bases são denominadas: adenina (A), citosina (C), guanina (G) e timina (T). Como as letras do alfabeto que formam palavras, frases e parágrafos, essas 4 bases formam longos fragmentos de genes chamados de ácido desoxirribonucleico, que é a abreviatura de DNA. O comprimento dos fragmentos do gene pode ser determinado pelo número de bases que esses fragmentos de gene contêm.



** imagem introduzida pela código ADN, não presente no artigo original. Exemplo do fragmento de um gene.*

Por exemplo, quando o fragmento do gene num relatório do teste de paternidade de DNA tem 2 kb,

isso significa que o fragmento do gene consiste em 2.000 bases. Todas as crianças têm uma mãe biológica e um pai biológico. Para cada gene da criança, ele / ela tem um par do gene (alelo), um herdado do pai biológico e o outro herdado da mãe biológica. Um teste de paternidade de DNA determina e examina o alelo encontrado na mãe, na criança e no suposto pai (quando a mãe participa no exame). A precisão dos resultados do teste de DNA depende da extensão do processo de teste de DNA (número de marcadores genéticos e frequências alélicas utilizadas). Com testes suficientes, a tecnologia de DNA fornece um método extremamente poderoso de discriminação entre pais e não pais.

O teste de paternidade significa simplesmente estabelecer a paternidade. Todos os indivíduos nascem com um perfil genético único conhecido como DNA. Como a estrutura molecular do DNA e as características genéticas de uma criança são herdadas ou determinadas pela estrutura do DNA da mãe e do pai biológico, a identificação do DNA fornece uma forma conclusiva e definitiva de estabelecer relações biológicas. Consequentemente, o teste de DNA tornou-se o método mais aceite para determinar a identidade dentro das comunidades jurídicas e científicas.

Os métodos padrões para a realização do teste de paternidade são: a reação em cadeia da polimerase (PCR), repetição em tandem curta (STR) e polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP), com a exclusão ou inclusão de um dos pais os resultados de um exame de DNA resulta num fator de probabilidade de 99,999999% ou 1 em 10 bilhões da população.

O que é teste de DNA?

O teste de DNA é a forma mais avançada de provar ou refutar relações biológicas. O teste é baseado na análise de material genético entre duas pessoas (por exemplo: uma criança e um suposto pai). O DNA é o "modelo" genético de cada pessoa. Metade do seu DNA é herdado da sua mãe e a outra metade do seu pai. Quando o DNA da criança é comparado ao de um suposto pai e não existe correspondência, essa pessoa é excluída com 100% de certeza como pai biológico. Se houver correspondência nos padrões de DNA, uma probabilidade de 99,999% ou mais é

obtida, estabelecendo assim uma relação biológica (Klein, 2005).

O teste de DNA de parentesco é o método mais confiável e poderoso de provar ou refutar a filiação - por razões legais, pessoais ou médicas. **Este teste responde de forma conclusiva a perguntas difíceis, resolve disputas, ajuda a agilizar os processos judiciais e facilita acordos pré-julgamento.**

Baseado numa análise altamente precisa dos perfis genéticos do filho e suposto pai. O DNA, o projeto genético único dentro de cada célula com núcleo do corpo de uma pessoa, determina o padrão genético e as características individuais. A criança herda metade desse padrão de DNA da mãe e metade do pai.

Objetivo do teste de paternidade

1. Objetivo principal:

- 1) Estabelecer um histórico médico preciso para a criança.
- 2) Prevenir disputas na adoção.
- 3) Criar um registo de imigração.
- 4) Promover a paz de espírito para todas as partes envolvidas.
- 5) Obter pensão alimentar e suporte financeiro ao menor.
- 6) Determinar o pai biológico.

2. Normalmente, o teste de DNA é para:

- 1) Quando a mãe da criança procura suporte financeiro, com principal foco na pensão alimentar de um homem que nega ser o pai da criança.
- 2) Um homem provar a sua relação biológica e poder entrar em disputa quanto à custódia ou direito de visita à criança.
- 3) Filhos adotivos na procura das suas famílias biológicas.
- 4) Pessoas que procuram identificar um dos pais quando o outro está ausente ou falecido, ou que desejam identificar outros parentes perdidos.
- 5) Pessoas que procuram provar uma relação com os seus avós paternos para obter os direitos de herança.
- 6) Pessoas que procuram entrar num país (obter nacionalidade) com base no fato de

serem parentes consanguíneos de um cidadão desse mesmo país, ou que pretendem estabelecer os seus direitos de nascença.

- 7) Aqueles que receberam resultados inconclusivos de outros laboratórios ou que desejam uma segunda opinião.
- 8) Casos criminais como violação, homicídio e incesto.

Como funciona o teste de DNA?

1. O teste é baseado nos princípios de herança biológica. A criança obtém metade da sua composição genética da mãe e a outra metade do pai biológico.

2. O teste sequênciava um número «lote» de marcadores genéticos de controlo (previamente definidos) de todos os intervenientes no exame de DNA.

**não mencionado no artigo original*, na Europa estes marcadores estão definidos por Lei, este lote de [marcadores genéticos](#) permite que as bases de dados genéticas sejam compatíveis umas com as outras, os sistemas utilizados na Europa e E.U.A são:

- Sistema Standard Europeu.
- Sistema CODIS

Se a mãe participar no exame de DNA, os marcadores genéticos que a criança herdou da mãe são localizados em primeiro. Em seguida, para determinar a paternidade, os marcadores restantes da criança são comparados com o suposto pai. Se o homem for de fato o pai, todos os marcadores que não correspondem aos da mãe devem corresponder aos dele. Se todos os marcadores restantes da criança corresponderem ao perfil de DNA do alegado pai, fica concluído de que ele é o pai biológico da criança. Se houver pelo menos três exclusões - não correspondências, então é excluído como o pai biológico da criança.

3. Quando a mãe não participa no exame, deve ser analisado um [número maior de](#)

[marcadores](#) para se aferir com a devida acuidade se existe uma ligação biológica entre o suposto pai e filho. Se esses marcadores mostrarem que o homem contribuiu com metade da composição genética da criança, fica evidenciado de que é o pai biológico da criança. Se os marcadores não coincidirem entre o suposto pai e a criança, o homem é excluído como o pai biológico da criança.

Sistema	Alegado Pai	Filho(a)
D3S1358	16,17	23,16
TH01	8,13	8,19
D21S11	9,8	25,9
D18S51	19,17	17,18

A imagem demonstra como é realizada a comparação da herança genética. Repare que para cada marcador genético «sistema na tabela» existe sempre um número igual entre a criança e o suposto pai, logo, nestes marcadores em específico poder-se-ia concluir que há relação biológica entre estas duas pessoas.

Nota: imagem introduzida apenas para curiosidade do leitor, nada se pode concluir quanto à relação biológica entre dois indivíduos apenas com quatro marcadores genéticos. O exame de paternidade deve ter no mínimo vinte marcadores genéticos.

4. As colheitas de ADN normalmente são realizadas através de um kit, na presença de um profissional de saúde ou, o [kit de colheita de ADN](#) pode ser enviado para casa se os clientes não precisarem de um resultado com validade jurídica.

Objetivo do teste / amostras necessárias

1. **Paternidade de rotina:** participa mãe, filho e suposto pai.
2. **Paternidade sem mãe:** participa filho e suposto pai.
3. **Paternidade pré-natal:** faz a colheita a mãe a partir da oitava semana de gestação e suposto pai.
4. **Suposto pai ausente:** mãe, filho e ambos os avós paternos, quando possível.
5. **Estudos de irmãos:** dois irmãos ou meios-irmãos, mãe (se disponível).

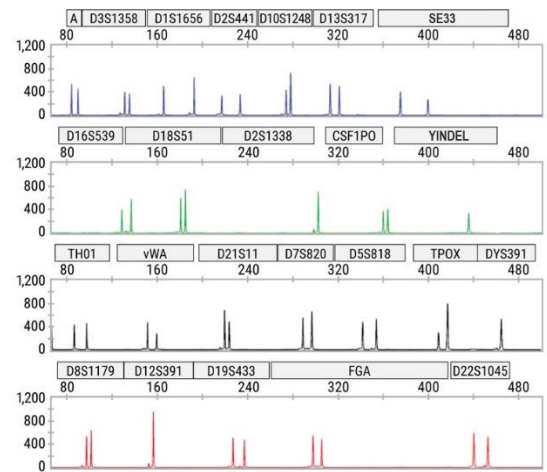
6. **Estudos de gêmeos idênticos:** participam os dois gêmeos.
7. **Deteção de esperma:** tecido onde se encontra a mancha biológica.
8. **Estudos de fidelidade conjugal:** amostras de controle de duas pessoas.
9. **Estudos forenses:** uma amostra das evidências, uma amostra de suspeitos e uma amostra das vítimas (se houver).

Princípio dos Métodos

O teste de DNA é realizado com a colheita de amostras de células da boca (ou gotas de sangue) da criança e do suposto pai. Junto com o consentimento informado, as amostras são enviadas para o laboratório para extração e processamento do DNA. Os resultados geralmente são disponibilizados em cerca de cinco dias após a chegada das amostras ao laboratório e podem ser concluídos em três dias com um custo adicional.

A seguir estão as etapas para a realização do teste de paternidade:

1. **Colheita das amostras:** As amostras são obtidas pelo esfreganço da parede interna da bochecha da criança e do alegado pai usando zaragatoas, poderá também ser colhida uma amostra de sangue com os *bloodcards*.
2. **Devolver as amostras ao laboratório:** As amostras, ficha de cliente e consentimento informado, são enviados para o laboratório de testes de DNA.
3. **Verificação pelo laboratório:** as amostras e documentos são verificados, identificados com números de rastreamento e códigos de teste exclusivos.
4. **Extrações de DNA:** o DNA é extraído da das zaragatoas ou dos *bloodcards* (quando utilizado sangue) da criança e do suposto pai, dando origem a um eletroferograma como o da imagem seguida ao ponto 5..
5. **Perfis de DNA:** os perfis de comparação de DNA são obtidos usando o processo PCR.



* *electroferograma relativamente à tecnologia ABI Global Filer 24 da Applied Biosystems. – kit que os serviços da Código ADN utilizam para a realização do teste de paternidade standard de 24 marcadores genéticos.*

6. Correspondências dos perfis de DNA: Identificação dos marcadores genéticos semelhantes e diferentes. Após identificação desses marcadores é identificado o resultado do teste.

Marcadores Genéticos	Características Hereditárias nome alegado pai HID 123456_123	Características Hereditárias nome filha(o) HID 123456_321
D3S1358	19, 24.2	19, 20.2
vWA	13, 15	13, 14
D16S539	12, 16	12, 16
CSF1PO	18, 19.3	15, 18
TPOX	18, 21	16, 17
Yindel	2	
AM	X, Y	X, X
D8S1179	12, 13	13, 14
D21S11	30, 30	28, 31.2
D18S51	12, 16	11, 15
DYS391	11	
D2S441	10, 14	10, 14
D19S433	14, 15	14, 15
TH01	8, 9	8, 9.3
FGA	21, 23	21, 22
D22S1045	16, 16	15, 15
D5S818	11, 12	10, 12
D13S317	11, 12	13, 14
D7S820	8, 12	9, 10
SE33	16, 18	15, 16
D10S1248	16, 17	15, 16
D1S1656	12, 13	11, 13
D12S391	11, 11	11, 12
D2S1338	8, 9	8, 11

XY = masculino; XX = feminino

* *O electroferograma é convertido numa tabela com os perfis genéticos dos indivíduos que participam no exame e é realizada uma comparação entre os valores, introduzindo as frequências alélicas, para ser gerada uma probabilidade de paternidade.*

O teste de paternidade de DNA, de forma simplista, pode assumir dois resultados. Este é o método mais preciso disponível, com poder de inclusão típico superior a 99,999%. Os resultados podem ser um de dois possíveis*.

**Em situações muito complexas (por exemplo quando envolve duas pessoas da mesma família, poderá haver inconclusividade do exame, contudo este artigo não aborda tais situações complexas.*

[1. Negativo, exclusão] O teste de paternidade prova que a pessoa testada não é o pai biológico da criança. A probabilidade de paternidade é 0%, e pode-se afirmar com 100% de certeza de que o homem em teste não se é o pai biológico do filho(a).

[2. Positivo, inclusão] Uma probabilidade de paternidade superior a 99,99% verifica que existe uma inclusão da paternidade. A probabilidade do pai ser o pai biológico do filho(a) em teste é superior a 99,99%.

Breve descrição dos métodos para extração do DNA

O DNA é extraído das células da bochecha, de algumas gotas de sangue ou de células em cultura. As enzimas de restrição de DNA são usadas para cortar a amostra de DNA em fragmentos, que são então colocados numa matriz de gel. A eletroforese é aplicada para que a corrente elétrica conduza os fragmentos através do gel - os fragmentos menores movem-se mais rápido, enquanto os fragmentos maiores movem-se lentamente. Os fragmentos de DNA separados são transferidos para uma membrana de náilon, que é exposta a uma sonda de DNA, um pequeno pedaço de DNA personalizado é reconhecido e liga-se a um segmento único do DNA da pessoa em teste. Essa membrana de náilon é colocada contra um filme que, ao ser revelado, mostra faixas pretas onde as sondas se ligam ao DNA.

O padrão de faixa visível da criança é único - metade combina com a mãe e metade com o pai. Este processo é repetido várias vezes, com cada sonda identificando uma área diferente no DNA e produzindo um padrão distinto. As técnicas atuais do teste de paternidade usam PCR e RFLP.

1. Teste de DNA com PCR: No método de teste de PCR, o DNA é primeiro isolado da amostra. Fragmentos de genes individuais são então produzidos sinteticamente em laboratório e marcados com etiquetas fluorescentes especiais. Essas etiquetas fluorescentes permitem a detecção dos genes.

2. Teste de DNA com STR: os marcadores de STR são locus polimórficos de DNA que contêm uma sequência de nucleotídeos repetidas. A unidade de repetição STR pode ter de dois a sete nucleotídeos de comprimento. O número de nucleotídeos por unidade de repetição é o mesmo para a maioria das repetições dentro de um locus STR. O número de unidades de repetição em um locus STR pode diferir, então existem muitos alelos com comprimentos diferentes. Os locus STR polimórficos são, portanto, muito úteis para fins de identificação humana. Os locus STR podem ser amplificados usando o processo de PCR e os produtos de PCR são então analisados por eletroforese para separar os alelos de acordo com o tamanho. Os alelos STR amplificados por PCR podem ser detetados usando vários métodos, como marcação com coloração fluorescente ou coloração cinzenta.

Teste de DNA com RFLP: No método de teste RFLP, o DNA isolado da amostra é cortado em fragmentos por enzimas de restrição de DNA. Em seguida, uma corrente elétrica é usada para separar fragmentos de DNA por tamanho. Os fragmentos de DNA separados são identificados com sondas de DNA. Essas sondas são pedaços de DNA feitos sob medida que se ligam e identificam um locus de gene específico.

Resumidamente, o método de teste de DNA pode ser descrito como o seguinte:

1. Extração e purificação do DNA. A amostra é tratada com produtos químicos para quebrar as células sanguíneas. O DNA

é separado das células e posteriormente purificado.

2. Corte do DNA em fragmentos. Enzimas que reconhecem certas sequências nos padrões de bases químicas são adicionadas ao DNA. Essas enzimas agem como tesouras moleculares e cortam a molécula do DNA em pontos específicos, deixando fragmentos de vários comprimentos.

3. Classificação dos fragmentos por comprimento. Os fragmentos de DNA são colocados num gel e uma corrente elétrica é aplicada. O DNA, que tem carga negativa, move-se em direção à extremidade positiva, os fragmentos menores movendo-se mais rápido do que os grandes. Horas depois, os fragmentos ficam organizados por comprimento.

4. Conexão das sondas. A folha de náilon é imersa num banho e uma sonda - um segmento de DNA de sequência conhecida - é adicionada. A sonda tem como alvo sequências de base específicas e liga-se a elas.

5. Impressão e análise. O filme de raios-X é exposto à folha de náilon contendo a sonda luminescente marcada. Bandas escuras desenvolvem-se nos locais da sonda.

Teste de DNA de paternidade

1. Conveniência: Quem pretende fazer um teste de paternidade pode colher as amostras em qualquer lugar, como em casa quando for conveniente ou diretamente numa clínica e enviar as amostras pelos correios ou qualquer outra forma de entrega (como por exemplo transportadoras).

2. Privacidade: A pessoa que deseja fazer o teste de paternidade nunca pode permanecer anónima, em Portugal, mas todo o processo é confidencial se desejar. É atribuído um número de teste que corresponde a um número de referência no kit.

3. Fácil: Para quem pretende fazer a colheita de DNA em casa pode usar apenas

um cotonete bucal (zaragatoa), o que significa que não há agulhas. Sem hematomas da colheita de sangue ou marcas de agulha se usar uma amostra a partir de um esfreganço bucal. A colheita na Boca é muito simples, basta *imaginar* o processo de escovar os dentes.

4. Confiabilidade: O relatório dos resultados do teste de paternidade é fácil de entender por um não-cientista.

5. Colheita em casa para o teste: Algumas empresas de teste de DNA podem oferecer um kit de colheita em casa para uma maior privacidade e conveniência. Contudo nunca é possível fazer a colheita de DNA em casa quando o exame é para ser utilizado no sistema jurídico. A identificação positiva dos intervenientes em clínica, garante uma cadeia de custódia para que os resultados dos testes sejam admissíveis num tribunal. Contudo, a colheita de DNA em casa é conveniente para clientes que querem fazer o teste, mas não estão interessados em usar os resultados por motivos legais.

Processo desde a aquisição do kit de colheita de DNA, controlos laboratoriais e envio dos resultados.

1. Pedido do kit de colheita de amostras

a) O cliente entra em contato com a empresa de teste de paternidade e pede um teste de DNA (por exemplo, paternidade, irmãos, avós).

b) O kit de colheita de DNA é enviado ao cliente. Os kits são codificados por um número de série em nome do cliente.

c) Cada participante preenche o formulário de pedido, incluindo a assinatura do consentimento informado, quando envolve maiores de idade, quando envolve menores, assina o tutor legal.

d) Quando opta pela colheita de DNA em casa, não existe forma de o laboratório validar a autenticidade da colheita, visto que as amostras foram colhidas pelo próprio.

- e) O teste com valor legal requer uma colheita independente por terceiros e identificação de cada participante. Os testes legais mantêm a cadeia de custódia documental completa das amostras e a identificação dos participantes desde a colheita até o relatório.
- f) O cliente (ou o profissional de saúde) envia as amostras de DNA para a empresa de teste de DNA.
- g) A empresa de teste de paternidade recebe os espécimes e submete-os ao processo de adesão.
- h) O teste de DNA é feito pela empresa de testes de DNA.
- i) O relatório do resultado do teste é concluído.
- j) Os resultados são enviados aos clientes.

2. Procedimentos laboratoriais básicos e controle de contaminação

São necessárias quatro salas em laboratório distintas e fisicamente separadas para execução do teste:

- a) Adesão e extração de DNA.
- b) Configuração de PCR.
- c) Amplificação de DNA.
- d) Detecção de DNA.

O fluxo de trabalho é sempre unidirecional desde a extração até a detecção para garantir que o DNA amplificado nunca se mova para os processos anteriores *upstream*. Isto inclui amostras, reagentes e papelada. Cada superfície de trabalho do laboratório é desinfetada, pelo menos uma vez por dia. Este procedimento remove quaisquer vestígios de contaminação da superfície. Os protocolos gerais exigem que todas as superfícies e equipamentos sejam limpos pelo menos uma vez por dia, bem como antes e depois de qualquer operação ou configuração de processo.

3. Processo de tratamento das amostras

- a) A correspondência é entregue em cassetes e classificada por tipo de chegada.

Toda a correspondência que tenha amostras de ADN é entregue na estação de trabalho acessória.

- b) Os envelopes que contém amostras são abertos e processados um de cada vez. Cada envelope ou recipiente de amostra é rotulado com um código de barras e inserido no sistema de rastreamento do laboratório, vinculando as amostras ao nome do solicitador do processo.
- c) O formulário de pedido/ ficha de cliente é usado para configurar o pedido no sistema de rastreamento do laboratório e no sistema de processamento financeiro. A identidade, etnia e relacionamento de cada participante em teste são inseridos nesta etapa do processo. Um número de pedido é atribuído ao caso. Esse número de pedido torna-se o identificador principal do caso à medida que avança no sistema laboratorial e no relatório.
- d) Cada amostra fica vinculado ao pedido.
- e) As amostras são alinhadas na linha de processamento para o processo de extração aplicável, dependendo do tipo de teste solicitado e do tipo de amostras.

4. Relatórios de investigação de parentesco

- a) O relatório de perícia de parentesco é realizado por um analista, com base nas amostras individuais recebidas dos intervenientes. Um relatório, «*resultado*» é emitido.
- b) O relatório final é então revisto por um analista sénior/ supervisor ou diretor do laboratório.
- c) Assim que todas as revisões forem conduzidas, o relatório será assinado pelo(s) revisor(es) final(is) e entregue ao cliente.

5. Divulgação de resultados

- a) Os representantes do suporte ao cliente verificam o arquivo do caso e determinam como o cliente escolheu receber os

resultados. Em muitos casos, os resultados são simplesmente enviados por email ou realizado o *upload* para uma página web segura, onde pode consultar e imprimir o relatório.

b) Em alguns casos, se os clientes preferirem uma cópia impressa esta será enviado aos clientes.

Para fazer um teste, a pessoa pode simplesmente ligar para [apoio ao cliente](#) da empresa que escolheu e solicitar um kit de colheita de DNA. Assim que a empresa receber as amostras e o pagamento, o exame é iniciado. Usando diretrizes de laboratório rígidas e procedimentos de controlo de qualidade, os testes normalmente são concluídos em 3 a 10 dias úteis. Para proteger a confidencialidade dos clientes, os resultados serão enviados num envelope discreto apenas para os endereços que os clientes fornecerem, se optarem por receber o relatório através do sistema de correio.

Preços dos serviços disponibilizados pelas empresas que realizam exames de DNA:

1. O processo é relativamente fácil.
2. O preço varia de empresa para empresa, em Portugal os preços praticados variam entre 250€ até 1200€, dependendo se as colheitas foram realizadas ao sangue, células da boca, tecnologia envolvida e terceiras partes auxiliares ao processo.
3. Quando estas terceiras partes ajudam em todo o processo, normalmente é aplicado um custo adicional, como por exemplo, um enfermeiro ajudar na colheita de ADN, o preço por este auxílio varia normalmente entre 10€ a 20€ por pessoa.
4. Se o cliente preferir não ir a um centro médico e não precisar de um resultado com valor jurídico, um kit de auto-colheita pode ser enviado para casa [gratuitamente](#).
5. Os resultados, dependendo da complexidade, demoram cerca de 3 a 20 dias úteis.

6. Normalmente basta a realização do exame de DNA informativo. Porém, se precisar de ter validade jurídica, é necessária que a colheita seja realizada por um profissional de saúde.

Para saber mais sobre os preços praticados pela Código ADN – Serviços de paternidade consulte a [tabelas de preços de exames de DNA](#).

O que é necessário para o teste paternidade?

1. Zaragatoas «*cotonetes*» bucais ou amostras de sangue são normalmente usadas para a realização do teste.
2. Amostras dos filhos(as), *mãe - opcional* e suposto pai(s) são necessárias.
3. As amostras devem ser devidamente colhidas, embaladas e apresentados com todos os documentos exigidos de forma a cumprirem os requisitos legais e científicos de admissibilidade em tribunal, se necessário.
4. A paternidade também pode ser determinada com precisão na ausência da mãe, testando a criança e o suposto pai.
5. Um teste de DNA de paternidade pode ser realizado em indivíduos de qualquer idade.
6. Os resultados geralmente ficam disponíveis entre 3 a 7 dias úteis.

Outros testes de DNA relações complexas familiares

1. Teste de maternidade. O teste de DNA pode responder de forma conclusiva a questões relacionadas à maternidade.
2. Teste de avós. Determina se uma pessoa é o verdadeiro avô/ avó de um putativo neto(a).
3. Teste de DNA entre irmãos. Determina se irmãos / irmãs são irmãos ou não.
4. Teste de DNA entre tios paternos ou maternos. Determina se existe uma relação biológica entre tio(a) / sobrinho(a). Normalmente estes exames solicitam a participação da mãe, para conclusividade.

5. Teste de paternidade pré-natal. Determina o pai da criança ainda durante a gestação.
6. Confirma o sexo e a identidade de um corpo não identificado.
7. entre outros (...).

Quando a análise é realizada apenas em laboratório, e os clientes pretendem que as amostras sejam colhidas ao sangue, estas devem ser devidamente colhidas, embaladas, preservadas e apresentadas com todos os documentos exigidos para que atendam aos requisitos legais e científicos de admissibilidade em tribunal, se necessário.

Para um teste, normalmente são necessários sangue (cerca de 2 ml) retirados de cada uma das partes envolvidas (mãe, filho / filhos e suposto pai (s)). As amostras de sangue devem ser colhidas em tubos de amostra de EDTA, que devem ser lacrados e claramente rotulados com o nome / número de identificação e a data da colheita. Todas as amostras colhidas devem ser mantidas a baixa temperatura (4°C). As amostras devem ser enviadas por meio de uma transportadora de entrega em mãos para que a cadeia de custódia possa ser rastreada.

Contudo, fique o leitor informado que, as amostras de sangue não são mais confiáveis que as células da boca.

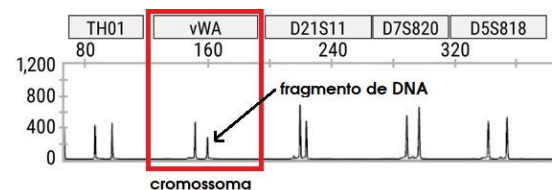
Discussão

Uma pessoa possui milhares de genes. Metade de cada pai. A aleatoriedade dessa combinação torna a composição genética de cada pessoa única, exceto para gêmeos idênticos. É essa combinação única dentro de cada célula que torna o teste de DNA tão poderoso na identificação humana. Os resultados podem excluir com 100% de certeza o alegado pai de uma criança ou confirmar com uma probabilidade superior a 99,999% ou mais a paternidade (a probabilidade de paternidade está diretamente ligada ao número de

marcadores genéticos utilizados e ao número de pessoas que participam no exame. Legalmente, uma probabilidade de 99,9% ou mais numa relação biológica é considerada prova de paternidade.

Quando o pai biológico de uma criança está em dúvida, um teste de DNA é a forma mais precisa para confirmação da paternidade. Com exceção de gêmeos idênticos, o DNA de cada pessoa é único, assim como uma impressão digital. O DNA contém todas as informações necessárias para produzir uma pessoa viva e é encontrado em todas as células nucleadas do corpo em estruturas conhecidas como cromossomas.

Todas as crianças recebem metade de seus cromossomas da sua mãe biológica e a outra metade do seu pai biológico. Cada pessoa normalmente tem dois fragmentos de DNA de tamanhos diferentes em cada localização do cromossoma, que podem ser detetados por sondas de DNA específicas. Portanto, para cada região do DNA testada, uma criança terá um fragmento de DNA que herdou da sua mãe e outro de seu pai.



* imagem representativa do cromossoma e de um fragmento de DNA. Por exemplo na posição vWA existem dois picos, contudo no relatório final não verá estes gráficos, mas a representação numérica destes picos. Por exemplo para o locus assinalado na figura acima no relatório será representado no seguinte formato vWA(18,13). – Em que o 18 corresponde ao pico maior e o 13 ao pico menor.

Um teste de paternidade de DNA examina diretamente fragmentos específicos de DNA em regiões predeterminadas nos cromossomas no filho e pai putativo, com um alto grau de precisão na identificação de pais biológicos.

Se a mãe participar no exame, inicialmente, os fragmentos de DNA encontrados na mãe e no filho são comparados. A criança terá um fragmento de DNA exatamente do mesmo tamanho de um fragmento de DNA encontrado na mãe. Saber qual o fragmento, de um par de fragmentos de DNA que a criança herdou da mãe, identifica o outro fragmento de tamanho que a criança recebeu do pai biológico. Se os fragmentos de DNA do pai putativo não corresponderem a três ou mais sondas, «locus» de DNA testadas, então esse homem é excluído com 100% de certeza como pai biológico da criança. Alternativamente, se o pai putativo corresponder à criança em todas as sondas de DNA testadas, então esse indivíduo não é excluído como um pai biológico, mas sim incluído.

A seguir, por meio de um programa de computador, é possível calcular a probabilidade de paternidade do homem em teste ser o pai biológico da criança quando comparado à população geral de homens da mesma raça. Em casos de inclusão, uma probabilidade de geralmente 99,999% ou mais é alcançada pelo teste de DNA, indicando que o homem que está a ser testado é, para "fins práticos comprovado", o pai biológico da criança.

Os resultados dos testes de paternidade de DNA são válidos em tribunal e podem ser usados para resolver casos de pensão alimentar e custódia, questões relacionadas com litígios, heranças e para a identificação de gémeos idênticos e outros membros da família. Este procedimento também pode ser usado para estabelecer outros relacionamentos dentro das famílias.

Os exames de sangue tradicionais envolvem o estudo de características genéticas ou "marcadores", como tipos de sangue (A, B, AB ou O) e antígeno leucocitário humano (HLA). Uma bateria de testes é necessária, exigindo uma amostra de sangue relativamente grande. Isso geralmente é um problema com recém-

nascidos e crianças pequenas. O teste baseado em DNA, que estuda o material genético diretamente, é 10 a 100 vezes mais preciso do que o teste tradicional e requer apenas algumas gotas de sangue ou um cotonete bucal.

Nos últimos anos, muitos testes de paternidade com esfreganços bucais são realizados em casa pelos próprios clientes. Em reação, iniciativas legais estão a aparecer por todo o mundo. A Comissão de Genética Humana do Reino Unido informou que a obtenção e análise não consensual de informações genéticas pessoais deve ser considerada crime. O Tribunal Federal de Justiça da Alemanha decidiu que os testes de paternidade realizados sem o conhecimento da mãe são inadmissíveis como prova em processos judiciais. A lei francesa proíbe estritamente a aplicação de testes de DNA sem o envolvimento do sistema judicial (Mertens, 2006).

Não há restrições de idade, porque a composição do DNA é definida na concepção - «fecundação». O teste pode ser realizado antes do nascimento da criança e os recém-nascidos podem ser testados com segurança no momento do parto usando sangue do cordão umbilical. Na verdade, as amostras podem ser colhidas de pessoas de qualquer idade, mesmo *post mortem*. É necessária apenas cinco gotas de sangue ou um cotonete contra a bochecha.

De acordo com o relatório da Cifuentes (2006), a probabilidade média de exclusão é uma medida de eficiência nos testes de paternidade. Este parâmetro mede a capacidade do sistema em detetar uma falsa acusação de paternidade. Tradicionalmente, essa probabilidade média de exclusão tem sido estimada como a probabilidade de excluir um homem que não é o pai por uma inconsistência em pelo menos um dos locus estudados. Foi sugerido então que o critério fosse corrigido. Atualmente o pai presumido é excluído quando pelo menos três

inconsistências genéticas são encontradas no suposto filho(a) em teste, e não apenas uma. Esta mudança de critério ocorreu devido ao uso de *locus microsatélites*, cujas taxas de mutação eram muito maiores do que as dos genes codificadores usados anteriormente em estudos de paternidade. Foi proposta o uso da probabilidade média de exclusão para pelo menos três locus (não apenas um), como uma medida honesta da probabilidade combinada de exclusão de vários locus, e também propuseram uma expressão algébrica para calculá-la (Cifuentes, 2006). De acordo com o relatório de Marjanovic, as técnicas moleculares padrão, com apenas uma ligeira modificação, são muito úteis na obtenção e interpretação dos resultados finais nos testes de paternidade. Os dados obtidos por meio dessa análise são altamente confiáveis. No entanto, o sucesso e a rapidez da tipagem de DNA de evidências biológicas, tanto as encontradas na cena do crime quanto as usadas em testes de paternidade disputados, dependem da otimização de vários fatores (Marjanovic, 2006).

O teste de paternidade pode distinguir o pai biológico e a relação pai / tio. O teste de paternidade também pode ser utilizado no caso de incesto entre irmão e irmã.

Sem o teste de DNA, as mulheres podem mentir para os filhos sobre quem é o seu pai e ser recompensadas com dezoito ou mais anos de pensão alimentar.

Referências originais

1. Apostolopoulos K, Labropoulou E, Konstantinos B, Rhageed S, Ferekidis E. Blood group in otitis media with effusion. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2002;64(6):433-5.
2. Applied Biosystems. AmpFlSTR® Profiler® PCR Amplification Kit User's Manual. 2006:1-2.
3. Cifuentes LO, Martinez EH, Acuna MP, Jonquera HG. Probability of exclusion in

- paternity testing: time to reassess. *J Forensic Sci.* 2006;51(2):349-50.
4. Clutton-Brock TH, Isvaran K. *Biol Lett.* 2006;2(4):513-6.
5. Dalya Rosner. Naked Science Articles: How does genetic fingerprinting work? Eyre-Walker A, Awadalla P. Does human mtDNA recombine? *J Mol Evol.* 2001;53(4-5):430-5.
6. MarketTools, Inc. Cybertory™ Virtual Laboratory Exercises. <http://www.cybertory.org/exercises/#paternity>. 2007a.
7. Garrison M. Law making for baby making: an interpretive approach to the determination of legal parentage. *Harv Law Rev.* 2000;113(4):837-923.
8. GenBank. American NIH official website. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>. (2021).
9. Henningsen K. On the application of blood group testing to cases of disputed paternity in Denmark. *Acta Med Leg Soc (Liege).* 1956;9:95-104.
10. Henry I, Hoovers J, Barichard F, Bertheas MF, Puech A, Prieur F, Gessler M, Bruns G, Mannens M, Junien C. Pericentric intrachromosomal insertion responsible for recurrence of del(11)(p13p14) in a family. *Genes Chromosomes Cancer.* 1993;7(1):57-62.
11. Jolly JG. Medicolegal significance of human blood groups. *J Indian Med Assoc.* 2000;98(6):340-1.
12. Klein RD, Dykas DJ, Bale AE. Clinical testing for the nevoid basal cell carcinoma syndrome in a DNA diagnostic laboratory. *Genet Med.* 2005;7(9):611-9.
13. Macan M, Uvodic P, Botica V. Paternity testing in case of brother-sister incest. *Croat Med J.* 2003;44(3):347-9.
14. Marjanovic D, Bakal N, Kovacevic L, Hodzic M, Haveric A, Haveric S, Ibrulj S, Durmic A. Optimisation of forensic genetics procedures used in disputed paternity testing: adjustment of the PCR

reaction volume. *Bosn J Basic Med Sci.* 2006;6(2):76-81.

15. Mertens G. *Acta Clin Belg.* 2006;61(2):74-8.

16. Schonemann C, Groth J, Leverenz S, May G. HLA class I and class II antibodies: monitoring before and after kidney transplantation and their clinical relevance. *Transplantation.* 1998;65(11):1519-23.

17. Wenk RE. Testing for parentage and kinship. *Curr Opin Hematol.* 2004;11(5):357-61.

18. Zhu H, Zhu Y, Ma H, Lu J. Ten-minute DNA Release Kits. *Nature and Science.* 2006;4(2):58-70.

19. Código ADN -
<https://www.codigoadn.pt/teste-paternidade>