

Secretaria de  
Estado da  
Segurança  
Pública



ESTADO DE GOIÁS  
SECRETARIA DE ESTADO DA SEGURANÇA PÚBLICA  
LABORATÓRIO DE BIOLOGIA E DNA FORENSE

Referência: Processo nº 202500016023169

Interessado(a): COORDENADORIA DE APOIO ADMINISTRATIVO

**Assunto: Justificativa para o aumento das despesas referentes à contratação por Inexigibilidade de Licitação para aquisição de insumos para o LBDF**

DESPACHO Nº 1124/2025/SSP/ICLR-LBDF-16285

Em atenção ao Despacho 1014 (81104286), no qual se solicita esclarecimentos acerca do aumento da despesa, descrevendo a necessidade e os possíveis impactos decorrentes da não aquisição dos insumos utilizados pelo Laboratório de Biologia e DNA Forense nos equipamentos Plataforma de Extração Automatizada Hamilton-IDStarlet, Analisador Genético 3500 da Life Technologies e Real-Time 7500, apresentamos as informações a seguir.

O processo de aquisição dos insumos específicos para os referidos equipamentos, de uso essencial e contínuo nas rotinas do laboratório, teve início em 2025 em virtude da proximidade do término do Contrato nº 137/2024 (Processo SEI nº 202400016043341), cuja vigência expira em 02/01/2026. A antecipação do novo processo foi necessária devido à complexidade e à longa tramitação das contratações, de forma a evitar a interrupção das análises de DNA por desabastecimento de materiais críticos.

Ressalta-se que anteriormente, as microplacas, filmes e demais consumíveis eram adquiridos por meio de processos licitatórios regulares, com possibilidade de utilização de insumos de diferentes fabricantes. Entretanto, diante das mudanças técnicas e das validações realizadas no âmbito da implementação da ABNT NBR ISO/IEC 17025 (81469136), os materiais atualmente utilizados passaram a possuir especificações exclusivas, sendo tecnicamente inviável a substituição por produtos de outras marcas sem comprometer a rastreabilidade, a confiabilidade e a conformidade metrológica dos resultados. Assim, a aquisição desses insumos passou a se enquadrar na modalidade de contratação por inexigibilidade de licitação, em razão da exclusividade da fornecedora Life Technologies Brasil para tais produtos.

Importa mencionar que os insumos possuem prazos de validade restritos — por exemplo, o polímero utilizado no Analisador Genético 3500 tem validade máxima de apenas quatro meses contados a partir da entrega. Por essa razão, a formalização do novo contrato próximo ao término do vigente permitirá uma programação de entregas controlada, evitando riscos de interrupção dos exames por vencimento de produtos ou falta de estoque.

A demanda foi inicialmente incluída no planejamento orçamentário de 2026 com o valor de R\$ 529.058,50. Contudo, o acréscimo de despesa decorre da necessidade de adequação às exigências técnicas impostas pela iminente acreditação dos exames de DNA, segundo a ABNT NBR ISO/IEC 17025, que demanda padronização de insumos e equipamentos previamente validados. Após a realização dos estudos de validação/verificação de desempenho (Relatório finalizado em 09/09/2025), constatou-se a necessidade de substituição de determinados itens — especialmente microplacas e filmes — por materiais homologados pela fabricante dos equipamentos, impactando o valor total da contratação.

Dessa forma, reforçamos que o novo contrato é imprescindível para a continuidade dos exames de DNA realizados no âmbito criminal do Estado de Goiás, e que o aumento do valor não era previsível à época da elaboração do PLOA 2026, motivo pelo qual não foi possível sua inclusão orçamentária tempestiva.

Estamos à disposição para quaisquer esclarecimentos adicionais.

Respeitosamente,

GOIANIA, 21 de outubro de 2025.

AMANDA RODRIGUES DE OLIVEIRA  
Coordenação Adjunta LBDF



Documento assinado eletronicamente por **AMANDA RODRIGUES DE OLIVEIRA, Coordenador (a) de Seção em Substituição**, em 22/10/2025, às 13:22, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site [http://sei.go.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=1](http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1) informando o código verificador **81408100** e o código CRC **B3C0D8BF**.



Referência: Processo nº 202500016023169



SEI 81408100

## RELATÓRIO DE ESTUDO DE VALIDAÇÃO/VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO

N.º do formulário: \_\_009/2025\_\_

Identificação do plano de estudo: Validação do kit de Amplificação de DNA Autossômico PowerPlex® Fusion 6C nos equipamentos Veriti e 3500 com preparo das placas pelo ID Starlet.	
Responsável: Advaldo Carlos de Souza Neto	Data: 09/09/2025

### Nome da(s) metodologia(s) a ser(em) avaliada(s):

**Amplificação de DNA Autossômico pelo kit PowerPlex® Fusion 6C nos equipamentos Veriti e 3500 com preparo das placas pelo ID Starlet.**

## RESULTADOS

### Introdução

O kit PowerPlex® Fusion 6C System foi validado pelo Laboratório de Biologia e DNA Forense da Polícia Científica de Goiás para o uso em amostras forenses com a detecção realizada nos Analisadores Genéticos Applied Biosystems® 3500. O sistema PowerPlex® Fusion 6C é um sistema de 27 locus que inclui todos os loci CODIS e ESS (Sistema Europeu). Os loci incluídos são: Amelogenina, D3S1358, D1S1656, D2S441, D10S1248, D13S317, Penta E, D16S539, D18S51, D2S1338, CSF1PO, Penta D, TH01, vWA, D21S11, D7S820, D5S818, TPOX, D8S1179, D12S391, D19S433, SE33, D22S1045, DYS391, FGA, DYS576 e DYS570. O laboratório possui uma plataforma de processamento de DNA Hamilton STARlet que é utilizada para a automação do preparo da placa de PCR com a configuração adequada ao kit PowerPlex® Fusion 6C. Esse relatório de validação avalia a capacidade da plataforma Hamilton STARlet preparar placas para amplificação por PCR que posteriormente serão analisadas em um Analisador Genético Applied Biosystems® 3500 de forma confiável e reprodutível. Antes que um método ou procedimento estabelecido possa ser empregado em um laboratório forense, uma validação interna deve ser concluída para mostrar que o método funciona conforme o esperado. Este resumo de validação descreve um conjunto de experimentos que mostra conformidade com as versões atuais dos Padrões de Garantia de Qualidade do FBI para Laboratórios de Genética Forense e com a ISO/IEC 17025:2017 juntamente com as diretrizes de validação descritas pelo Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM). Os estudos realizados foram estudos de precisão e exatidão da amplificação de amostras conhecidas e de simulações de amostras forenses e avaliação de contaminação.

### Definições:

Acurácia é o grau de conformidade de uma medida quantitativa com seu valor real (verdadeiro).

Altura média de Picos é calculada adicionando todos os picos detectados e depois dividindo o resultado pelo número esperado de picos. Os casos de dropout de alelos são tratados com um pico com 0 RFUs na soma. Por isso, podem ser obtidos valores de Média de Altura de Picos abaixo do Limiar analítico em amostras com baixa quantidade de DNA.

Artefato é um pico não-alélico originado de um produto de PCR ou do instrumento usado para eletroforese capilar. Picos não-alélicos comuns incluem os stutters; adição de nucleotídeos independente de molde (Picos +A/-A), picos de amplificação inespecífica, spikes, linha de base elevada e pull-up.

CODIS é o acrônimo para Combined DNA Index System. CODIS é um banco de dados nacional dos Estados Unidos da América mantido pelo Federal Bureau of Investigation (FBI). Existem vinte loci STR requeridos para subir perfis de DNA no banco de dados nacional (CODIS core).

Contaminação é a introdução não intencional de DNA exógeno em uma amostra ou controle durante o exame de DNA.

Controle positivo consiste na amplificação da amostra de DNA padrão conhecida 2800M. Ele é usado para determinar se a reação de PCR teve desempenho adequado. Controle negativo consiste na presença de somente os reagentes da quantificação sem a adição de nenhuma fonte de DNA. É usado para detectar a contaminação de DNA nos reagentes de quantificação.

ESS é o acrônimo para European Standard Set. ESS definido pelo grupo de trabalho da European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) e requer doze marcadores principais de STR para o compartilhamento de perfis de DNA entre as bases de dados nacionais da Europa.

ISO/IEC é o acrônimo para o comitê técnico conjunto da Organização Internacional para Padronização e a Comissão Eletrotécnica Internacional. ISO/IEC desenvolve, mantém e promove padronização que abrangem múltiplos setores.

Limiar analítico é um requerimento de altura (RFU) mínima, determinado por meio de validação, ao qual valores de picos/sinais com alturas detectadas iguais ou superiores podem ser confiavelmente distinguidas do ruído de fundo. Ou seja, picos/sinais com valores iguais ou acima desse limiar geralmente não são considerados ruídos e são artefatos ou alelos verdadeiros.

Precisão caracteriza o nível de concordância mútua entre uma série de medidas individuais, valores ou resultados.

Razão de Altura de Picos (Peak Height Ratio - PHR) é calculado a partir da divisão do valor da altura do pico do alelo de menor RFU pelo valor da altura do pico do alelo de maior RFU. Esse valor é, então, multiplicado por cem para que o PHR seja expresso como porcentagem.

SWGDM é o acrônimo para o Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (Grupo de Trabalho em métodos de Análise de DNA). O SWGDAM provê recomendações para o Federal Bureau of Investigation (FBI) e para a comunidade de

DNA forense dos Estados Unidos sobre padrões de garantia da qualidade, pesquisa, protocolos e metodologias.

Validação interna é uma série de testes internos que demonstram que os métodos e procedimentos estabelecidos possuem o desempenho esperado.

## Materiais e métodos

### Amplificação do DNA com PowerPlex® Fusion

A amplificação das amostras com o PowerPlex® Fusion 6C foi realizada em um termociclador modelo Veriti™ 96-Well Thermal Cycler seguindo os parâmetros de ciclagem descritos no manual técnico do PowerPlex® Fusion 6C (TMD045) para amplificação de DNA extraído em um volume de reação de 25µL. O protocolo de ciclagem foi realizado usando 100% da velocidade da rampa com os seguintes parâmetros: 96°C por 1 minuto, 29 ciclos de 96°C por 5 segundos e 60°C por 1 minuto, seguido por 60°C por 10 minutos e uma temperatura de 4°C para manter a refrigeração da amostra após o fim da ciclagem. O mix da reação para a amplificação do DNA extraído consistiu em 5µl de PowerPlex® Fusion 6C 5X Master Mix, 5µl de PowerPlex® Fusion 6C 5X Primer Pair Mix e 15µl de DNA/água. Os controles positivos consistiram na aplicação de 1ng do DNA padrão 2800M. Os controles negativos continham água e o mix de reação. No [Apêndice A](#) estão disponíveis os lotes dos reagentes e os números de série dos equipamentos utilizados durante a validação. O [Apêndice B](#) contém a disposição das amostras nas placas corridas durante a validação.

### Análise dos dados dos fragmentos

A resolução espectral nos analisadores genéticos 3500 foi realizada pelo laboratório utilizando o PowerPlex® 6C Matrix Standard (TMD046). Para as amostras amplificadas utilizando o kit PowerPlex Fusion 6C, 1,0µl do DNA amplificado ou da escada alélica foi combinado com 9,5µl de Hi-Di™ Formamide e 0,5µl do WEN Internal Lane Standard 500 (WEN ILS). As amostras foram desnaturadas por calor por 3 minutos a 95°C e resfriadas rapidamente por 3 minutos. As amostras foram analisadas nos equipamentos 3500 CE #1 ou CE #2 com o software Data collection Software version 3.0 (CE#1) ou 4.0.1 (CE#2) e foram injetadas a 1,2 kV por 15 segundos. Os dados foram analisados usando o software GeneMapper® IDX v 1.6 com a versão 1.2 do panel, bins e stutter fornecidos pela empresa PROMEGA. Os valores previamente estabelecidos de limiares analíticos para os analisadores genéticos 3500 foram utilizados para essa validação. O [Apêndice C](#) contém os métodos de análise usados durante toda a validação.

### Acurácia

A amostra de DNA padrão DNA 2800M fornecida no kit de amplificação PowerPlex® Fusion 6C foi usada para o estudo de reprodutibilidade. Cada amostra de DNA 2800M foi amplificada usando uma quantidade de DNA na reação de 1ng, com a preparação da amostra realizada pelo equipamento Hamilton STARlet. As amostras do padrão

2800M foram avaliados em relação à concordância, à altura média de picos e à razão de altura de picos. Os estudos foram realizados no equipamento Applied Biosystem 3500 #2.

#### Precisão com amostras conhecidas e amostras forenses simuladas

Cinco amostras conhecidas, seis amostras forenses simuladas e três amostras de sensibilidade (Amostras da Validação do kit PowerQuant® M1-M3; 0,025ng/μL) foram normalizadas visando 1ng de DNA (quando possível) em duplicata em uma placa de PCR preparada pela plataforma Hamilton STARlet e a eletroforese capilar ocorrendo no instrumento Applied Biosystems® 3500 (CE #2). As amostras normalizadas pelo STARlet variaram em concentração autossômica de 0,0097ng/μl a 8,6205ng/μl com base nos resultados de quantificação obtidas no equipamento Applied Biosystems® 7500. Essas faixas de concentrações autossômicas se enquadram na amplitude de diluição de normalização do equipamento Hamilton STARlet e foram geradas na validação automatizada do PowerQuant®.

Os perfis de sensibilidade das amostras conhecidas, das amostras forenses simuladas e as amostras M1-M3 oriundas da Validação do kit PowerQuant® resultantes das placas preparadas pelo Hamilton STARlet foram comparados aos resultados obtidos por placas preparadas manualmente. Os resultados de concordância, altura média do pico e razão da altura do pico das amostras de forenses simuladas foram realizados a partir da comparação com os dados obtidos anteriormente a partir de amplificação manual utilizando o kit PowerPlex® Fusion 6C e analisadas no Applied Biosystems 3500 por meio do software de análise GeneMapper® ID-X v1.6.1. Amostras preparadas manualmente passaram por eletroforese capilar no instrumento Applied Biosystems® 3500 (CE nº 1).

#### Detecção de contaminação

Controles negativos foram incluídos em um padrão de tabuleiro de xadrez nas placas das amostras conhecidas e de amostras forenses simuladas para avaliar a presença de DNA exógeno nos reagentes e no fluxo de trabalho da plataforma Hamilton STARlet. Um total de vinte e sete controles negativos foram preparados pelo Hamilton STARlet e avaliados no equipamento Applied Biosystems® 3500 CE #2.

### **Resultados - Acurácia**

Os resultados oriundos do preparo do controle positivo (2800M) pelo Hamilton STARlet foram concordantes com os esperados a partir do perfil fornecido na Tabela 9 do Apêndice 11.A no manual técnico do PowerPlex® Fusion 6C (TMD045) (Tabela 1). A altura média dos picos do 2800M foi de 2067 RFU (Tabela 2). As Razões de Altura de Pico foram maiores que 70 por cento (Tabela 3).

Tabela 1. Resultados de genótipo para a amostra 2800M amplificada com PowerPlex® Fusion 6C em um Termociclador Veriti™ de 96 Poços por 29 ciclos. As eletroforeses

capilares foram realizadas nos analisadores genéticos Applied Biosystems® 3500 CE #2 [SN 31179-010] usando uma injeção de 1,2 kv por 15 segundos.

Acurácia Hamilton		
Amostra	2800M	
Marcador	Provido	Obtido
AMEL	X, Y	X, Y
D3S1358	17, 18	17, 18
D1S1656	12, 13	12, 13
D2S441	10, 14	10, 14
D10S1248	13, 15	13, 15
D13S317	9, 11	9, 11
Penta E	7, 14	7, 14
D16S539	9, 13	9, 13
D18S51	16, 18	16, 18
D2S1338	22, 25	22, 25
CSF1PO	12	12
Penta D	12, 13	12, 13
TH01	6, 9.3	6, 9.3
vWA	16, 19	16, 19
D21S11	29, 31.2	29, 31.2
D7S820	8, 11	8, 11
D5S818	12	12
TPOX	11	11
D8S1179	14, 15	14, 15
D12S391	18, 23	18, 23
D19S433	13, 14	13, 14
SE33	15, 16	15, 16
D22S1045	16	16
DYS391	10	10
FGA	20, 23	20, 23
DYS576	18	18
DYS570	17	17

Tabela 2. Altura média de picos da amostra padrão 2800M amplificada com PowerPlex® Fusion 6C em um Veriti™ por 29 ciclos. A eletroforese capilar foi realizada no equipamento Applied Biosystems® 3500 CE #2 [SN 31179-010] usando uma injeção de 1,2 kv por 15 segundos. O mapa de calor de três cores foi usado para representar a menor altura média de picos (vermelho) e a maior altura média de picos (verde escuro).

O mapa de calor permite uma visualização rápida da faixa de alturas de picos observadas.

Altura média dos picos Hamilton	
Marcador	2800M
AMEL	1493
D3S1358	2802
D1S1656	2185
D2S441	2636
D10S1248	2069
D13S317	2961
Penta E	1857
D16S539	1189
D18S51	2043
D2S1338	1437
CSF1PO	2287
Penta D	2371
TH01	932
vWA	3036
D21S11	2128
D7S820	1901
D5S818	1974
TPOX	2290
D8S1179	1972
D12S391	1623
D19S433	2002
SE33	3010
D22S1045	3376
DYS391	737
FGA	1002
DYS576	1737
DYS570	1786
Média da Amostra	2067

Tabela 3. Razão de Altura de Picos (PHR) da amostra padrão 2800M amplificada com PowerPlex® Fusion 6C em um Termociclador Veriti™ de 96 Poços por 29 ciclos. A eletroforese capilar foi realizada no equipamento Applied Biosystems® 3500 CE #2 [SN 31179-010] usando uma injeção de 1,2 kV por 15 segundos. O mapa de calor de três cores foi usado para representar a menor Razão de Altura de Picos (vermelho) e a

maior proporção de altura de pico (verde escuro). O mapa de calor permite uma visualização rápida da amplitude das Razão de Altura de Picos observadas. Células cinzas indicam loci homozigotos ou de marcadores Y-STR

Razão de Altura de Picos - Hamilton	
Marcador	2800M
AMEL	98%
D3S1358	77%
D1S1656	71%
D2S441	89%
D10S1248	92%
D13S317	89%
Penta E	86%
D16S539	91%
D18S51	95%
D2S1338	97%
CSF1PO	
Penta D	76%
TH01	94%
vWA	94%
D21S11	100%
D7S820	99%
D5S818	
TPOX	
D8S1179	81%
D12S391	87%
D19S433	89%
SE33	82%
D22S1045	
DYS391	
FGA	73%
DYS576	
DYS570	
Células cinza – Locus Homozigoto/YSTR	

### Resultados – Precisão com amostras conhecidas e amostras forenses simuladas

Perfis completos foram obtidos para todas as amostras conhecidas, exceto a réplica Conhecida 10.1. Foi observada 100% de concordância entre os perfis obtidos pelo Hamilton STARlet e pela amplificação manual (Tabela 4). As alturas médias dos picos

das amostras variaram de 112 RFU a 3619 RFU para amostras amplificadas pelo STARlet e de 2811 RFU a 5271 RFU para amostras amplificadas manualmente (Figura 1 e [Apêndice D](#)). Excluindo a réplica Conhecida 10.1, as Razões de Altura de Picos variaram de 61% a 100% nas preparações de amplificação manual e automatizada (Tabela 5). As menores alturas de pico e proporções de altura de pico observadas foram da réplica Conhecida 10.1 preparada de forma automatizada. Esta amostra é um outlier em comparação com a preparação manual Conhecida 10 e a outra preparação automatizada da réplica Conhecida 10.

Os perfis das seis amostras forenses simuladas foram consistentes entre as réplicas preparadas pelo STARlet (Tabela 6). As diferenças entre os perfis podem ser atribuídas a eventos de stutter e/ou alelos adicionais detectados entre as réplicas. Foram obtidos perfis completos para todas as amostras da validação do kit PowerQuant®, exceto a réplica 1 da amostra M1 com concentração de 0,025ng/uL preparada pelo STARlet. Em geral, as amostras apresentaram 100% de concordância entre os perfis produzidos pelo STARlet e de forma manual (Tabela 7). As alturas médias dos picos das amostras variaram de 95 RFU a 352 RFU para amostras amplificadas pelo STARlet e de 318 RFU a 919 RFU para amostras amplificadas manualmente (Figura 2 e [Apêndice E](#)). As razões das alturas dos picos variaram de 40% a 99% nas amplificação preparadas de forma manual ou de forma automatizada (Tabela 8).

Tabela 4. Genótipos obtidos para as amostras conhecidas amplificadas com PowerPlex® Fusion 6C em um termociclador Veriti™ por 29 ciclos. A eletroforese capilar foi realizada no equipamento 3500 CE #2 [SN 31179-010] usando uma injeção de 1,2kv por 15 segundos. Células cinza indicam loci Y-STR em amostras oriundas de pessoas do sexo feminino. Células azuis indicam discordância entre as réplicas.

Locus	Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton	
	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet	Conhecida	STARlet
AMEL	3	X, Y	3.1	X, Y	4	X, Y	4.1	X, Y	7	X, Y	7.1	X, Y	10	X	10	X	10	X	10	X
D3S1358	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18	15	15	15	15	18	18	18	18	18	18	18	18
D1S1656	14, 16	14, 16	14, 16	14, 16	12, 16.3	12, 16.3	12, 16.3	12, 16.3	16, 16.3	16, 16.3	16, 16.3	16, 16.3	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3
D2S441	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	11	11	11	11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14
D10S1248	14	14	14	14	14, 15	14, 15	14, 15	14, 15	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16
D13S317	11	11	11	11	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11
Penta E	7, 13	7, 13	7, 13	7, 13	5, 10	5, 10	5, 10	5, 10	12, 21	12, 21	12, 21	12, 21	5, 13	5, 13	5, 13	5, 13	5, 13	5, 13	5, 13	5, 13
D16S539	11, 13	11, 13	11, 13	11, 13	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12
D18S51	18, 22	18, 22	18, 22	18, 22	16, 19	16, 19	16, 19	16, 19	10, 18	10, 18	10, 18	10, 18	12, 16	12, 16	12, 16	12, 16	12, 16	12, 16	12, 16	12, 16
D2S1338	17, 18	17, 18	17, 18	17, 18	20, 23	20, 23	20, 23	20, 23	17, 20	17, 20	17, 20	17, 20	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24
CSF1PO	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	11	11	11	11	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12
Penta D	9, 13	9, 13	9, 13	9, 13	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	12	12	12	12	12	12	12	12
TH01	7, 9.3	7, 9.3	7, 9.3	7, 9.3	6, 7	6, 7	6, 7	6, 7	8	8	8	8	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9
vWA	17, 18	17, 18	17, 18	17, 18	13, 18	13, 18	13, 18	13, 18	16, 20	16, 20	16, 20	16, 20	16	16	16	16	16	16	16	16
D21S11	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	28, 31	28, 31	28, 31	28, 31	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	29, 32.2	29, 32.2	29, 32.2	29, 32.2	29, 32.2	29, 32.2	29, 32.2	29, 32.2
D7S820	7, 12	7, 12	7, 12	7, 12	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12
D5S818	11	11	11	11	9, 10	9, 10	9, 10	9, 10	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13
TPOX	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11
D8S1179	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16
D12S391	21, 24	21, 24	21, 24	21, 24	19	19	19	19	18, 23	18, 23	18, 23	18, 23	18, 21	18, 21	18, 21	18, 21	18, 21	18, 21	18, 21	18, 21
D19S433	13.2, 14	13.2, 14	13.2, 14	13.2, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13	13	13	13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13
SE33	19, 27.2	19, 27.2	19, 27.2	19, 27.2	26.2	26.2	26.2	26.2	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22	23.2, 28.2	23.2, 28.2	23.2, 28.2	23.2, 28.2	23.2, 28.2	23.2, 28.2	23.2, 28.2	23.2, 28.2
D22S1045	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17	14	14	14	14	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17
DYS391	11	11	11	11	10	10	10	10	11	11	11	11								

FGA	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	20, 24	23, 24	23, 24	23, 24	22, 28	22, 28
DYS576	19	19	18	18	18	18	18	18	18		
DYS570	17	17	19	19	19	18	18	18	18		
Células azuis = Discordância entre as réplicas	Células cinzas = YSTR Locus de um doador feminino										

Tabela 5. Razão de Altura de Picos (PHR) para as amostras conhecidas amplificadas com PowerPlex® Fusion 6C em um Veriti™ por 29 ciclos. As eletroforeses capilares ocorreram no analisador genético Applied Biosystems® 3500 CE #2 [SN 31179-010] usando uma injeção de 1,2 kV por 15 segundos. Um mapa de calor de três cores foi usado para representar a menor Razão de Altura de Picos (vermelho) para a maior Razão de Altura de Picos (verde escuro). O mapa de calor permite uma rápida visualização da amplitude das Razões de Altura de Picos obtidas. Células em cinza indicam marcadores de Y-STR e as células brancas indicam presença de dropout no locus.

Razão de Altura de Picos		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton STARlet		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton STARlet		Preparo Manual		Preparo pelo Hamilton STARlet	
Locus	Conhecida 3	Conhecida 3.1	Conhecida 4	Conhecida 4.1	Conhecida 7	Conhecida 7.1	Conhecida 10	Conhecida 10	Conhecida 10.1	Conhecida 15	Conhecida 15	Conhecida 15.1	Conhecida 15.1
AMEL	87%	92%	87%	90%	86%	85%							
D3S1358	93%	89%	98%	79%						90%	91%	84%	
D1S1656	93%	99%	99%	97%	86%	100%	94%	97%		97%	88%	98%	
D2S441	86%	92%	99%		82%	83%	91%	76%	81%	88%	97%	84%	
D10S1248			98%	97%	88%	81%	83%	89%	79%	94%	97%	89%	

D13S31 7				84%	76%	72%	100%	100%	95%	99%	85%	39%	92%	83%	82%
Penta E	92%	94%	96%	78%	100%	83%	74%	89%	73%	79%	76%	48%	91%	96%	91%
D16S53 9	91%	100%	92%	95%	89%	93%	99%	95%	87%	90%	93%	88%	95%	98%	93%
D18S51	95%	79%	83%	70%	71%	70%	92%	97%	92%	93%	86%	65%	91%	83%	82%
D2S133 8	87%	98%	96%	84%	98%	99%	91%	99%	90%	99%	85%	54%	92%	85%	90%
CSF1PO	95%	92%	79%	86%	92%	86%				95%	93%	96%	97%	97%	75%
Penta D	93%	93%	80%	87%	80%	83%	94%	87%	77%						
TH01	95%	97%	100%	91%	93%	90%				97%	87%	86%			
vWA	86%	82%	98%	89%	88%	97%	82%	77%	80%						
D21S11	91%	97%	94%	99%	84%	90%	98%	95%	70%	95%	87%	86%	89%	82%	90%
D7S820	96%	84%	89%	99%	91%	77%	87%	79%	61%	81%	88%	60%	92%	97%	88%
D5S818				88%	89%	89%	86%	80%	77%	96%	98%	91%	98%	85%	90%
TPOX	77%	99%	84%	77%	94%	95%	98%	94%	90%	99%	100%		98%	95%	83%
D8S117 9	99%	91%	96%	85%	85%	88%	88%	92%	87%	99%	85%	63%	96%	97%	83%
D12S39 1	95%	92%	90%				90%	74%	85%	96%	98%	75%	96%	88%	81%
D19S43 3	98%	96%	83%	91%	84%	93%				82%	74%	57%			
SE33	89%	76%	94%				94%	87%	92%	88%	98%	62%	89%	82%	88%
D22S10 45	99%	91%	97%				84%	91%	97%	91%	91%	84%			
DYS391															
FGA	90%	98%	96%	93%	100%	85%	95%	85%	96%	91%	99%	51%	98%	87%	85%
DYS576															
DYS570															
Células cinzas = Locus Homozigoto/YSTR										Células brancas = Dropout Locus					

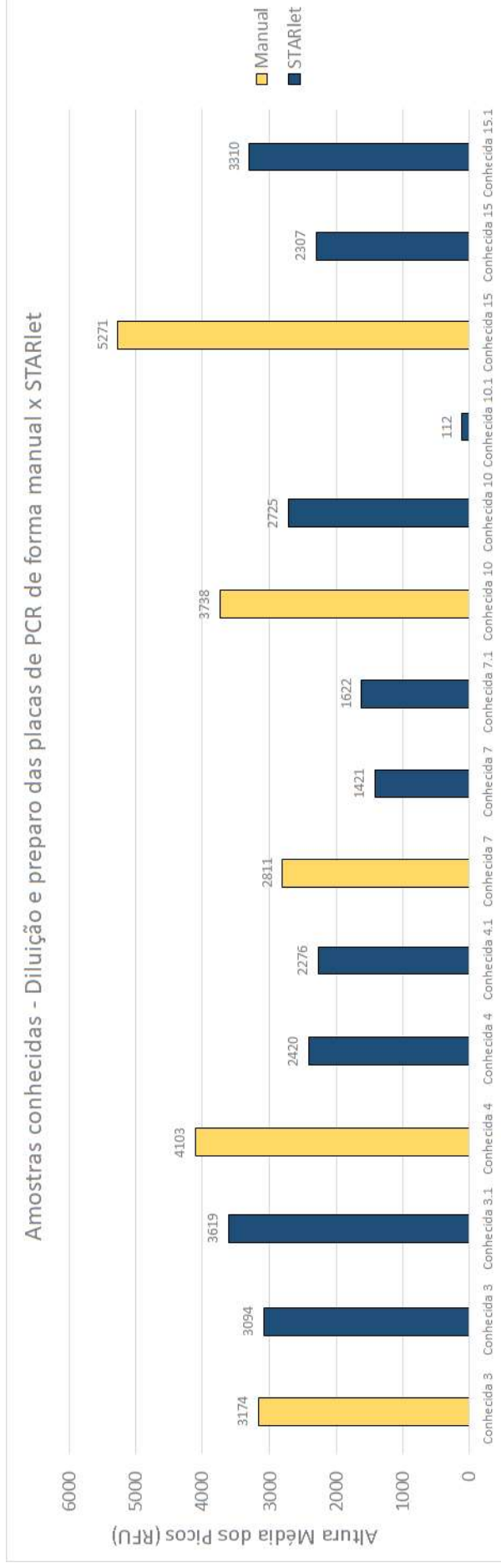


Figura 1. Altura média dos picos das amostras conhecidas amplificadas com PowerPlex® Fusion 6C em um Veriti™ por 29 ciclos. As eletroforeses capilares ocorreram no analisador genético Applied Biosystems® 3500 usando uma injeção de 1,2 kV por 15 segundos. Barras amarelas representam os valores das amplificações com diluição e preparo da placa de forma manual e eletroforese realizada no 3500 CE #1 [SN 26109-110]. Barras azuis representam os valores das amplificações com diluição e preparo da placa no STARlet e eletroforese realizada no 3500 CE #2 [SN 31179-010].

Tabela 6. Genótipos obtidos para as amostras forenses simuladas com PowerPlex® Fusion 6C em um termociclador Veriti™ por 29 ciclos. A eletroforese capilar foi realizada nos equipamentos Applied Biosystems 3500 usando uma injeção de 1,2kv por 15 segundos. Os resultados entre as amostras preparadas manualmente e pelo STARlet foram comparados.

Preparo Manual	Preparo pelo Hamilton STARlet	Preparo Manual	Preparo pelo Hamilton STARlet	Preparo Manual	Preparo pelo Hamilton STARlet	Preparo Manual	Preparo pelo Hamilton STARlet

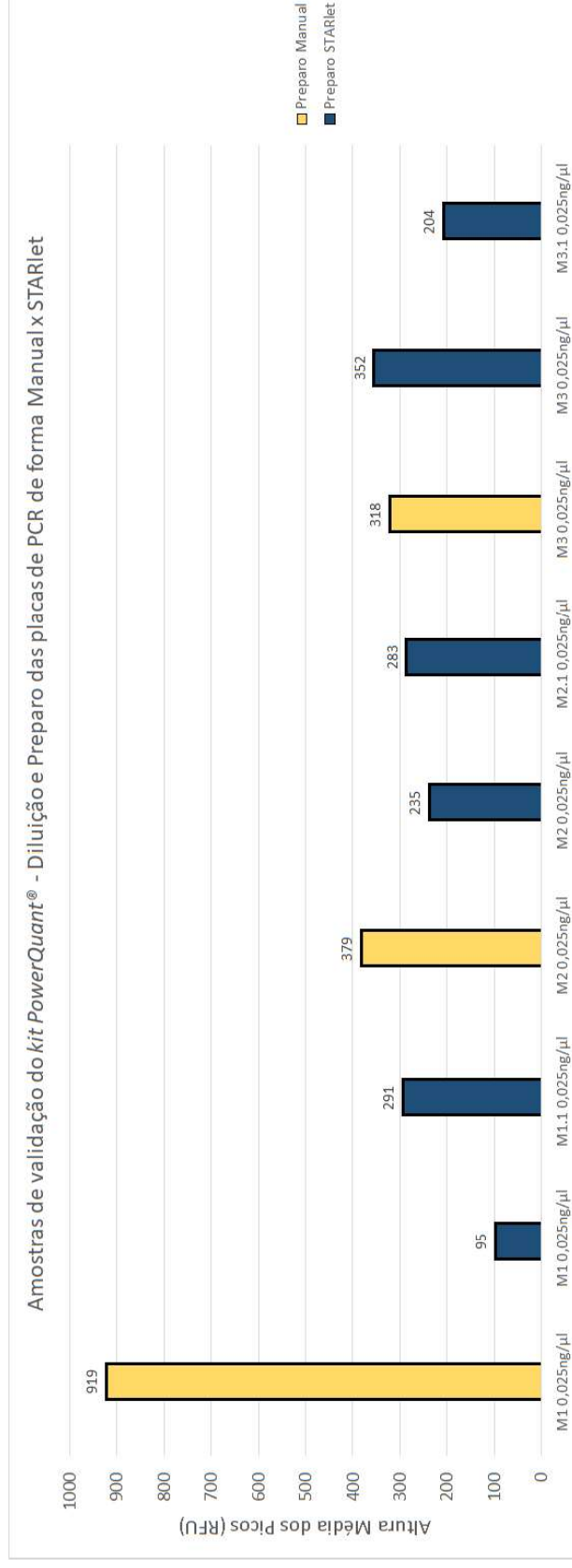
Locus	Simulada2	Simulada2	Simulada2.1	Simulada4	Simulada4.1	Simulada7	Simulada7.1	Simulada9	Simulada9.1
AMEL	X, Y	X, Y	X, Y	X	X	X	X	X, Y	X, Y
D3S1358	15, 16	15, 16	15, 16, 17	15, 16	15, 16	15	15	15, 16	15
D1S1656	16, 17.3	14, 16, 17.3	16, 17.3	12, 15, 16, 16.3	12, 16.3	13, 15.3	13, 15.3	12, 14	12, 14
D2S441	10, 11, 13	10, 11	10, 11	10, 11, 14	10, 14	11	11	14	14
D10S1248	13, 14	13, 14	13, 14	14, 16	14, 16	14	14	13, 15	13, 15
D13S317	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	10, 11, 12	9, 13	9, 13	11, 12, 13	11, 12, 13
Penta E	5, 14	5, 14	5, 14	5, 16, 19	5, 18, 19	5, 12	5, 12	7, 10	7, 10
D16S539	9, 11, 13	11, 13	11, 13	9, 11, 12, 14	11, 12	11, 12	11, 12	11	11
D18S51	14, 17, 18	17, 18	17, 18	12, 13	12, 13	13, 14	13, 14	14, 15	14, 15
D2S1338	17, 22	17, 22	17, 22	16, 17, 23	16, 17, 24	17, 25	17, 25	18	18
CSF1PO	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11, 12, 14	10, 11, 12	10, 12	10, 12	10, 11	10, 11
Penta D	10, 15	10, 15	10, 15	2.2, 8	2.2, 8, 14	11, 12	11, 12	9	9
TH01	6, 9	6, 7, 9	6, 7, 9	7, 8, 9.3	6, 7, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 10	6
vWA	16, 18	16	16	17	17	17	17	16, 17	16, 17
D21S11	27, 33.2	27, 33.2	27, 33.2	28, 30, 32.2	30, 32.2	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30
D7S820	9, 10, 11	9, 10	9, 10	10, 11, 12	10, 11, 12	8, 10	8, 10	10, 11	8, 10, 11
D5S818	11, 13	11, 13	11, 13	11, 12	11, 12	11, 12	11, 12	11	11

TPOX	8	8	8	9, 11	9	9	8	8	8	8	11, 12	10, 11, 12	11, 12
D8S1179	10, 12, 13	12, 13	12, 13	13, 14	13, 14	13, 14	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10	10	10
D12S391	20, 22	20, 22	20, 22	18, 20, 23	18, 20, 23	18, 20, 23	19, 23	19, 23	19, 23	19, 23	18, 20	18, 20	18, 20
D19S433	13, 16	13, 16	13, 16	13.2	13.2	13.2	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	14.2	14.2	14.2
SE33	16, 19.2, 21	15.2, 16, 21	16, 21	19, 21	19	19	15, 27.2, 28.2	15, 15.2, 27.2, 28.2	15, 27.2	15, 27.2	19.2, 29.2, 30.2	19.2, 29.2, 30.2	19.2, 29.2, 30.2
D22S1045	16, 17	16, 17	16, 17	11, 14	11, 14, 15	11, 14, 15	16	16	16	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17, 18
DYS391	11	11	11	11	11	11					10	10	10
FGA	19, 23	19, 23	19, 23	20, 21, 22, 25	20, 22, 25	20, 22	20, 22	20, 22	18, 20, 22	18, 20, 22	22	20, 22	22
DYS576	17	17	17								16	16	16
DYS570	19	19	19	17							16	16	16
Alelos adicionais não observados nas outras Replicatas				Células Azuis = Discordância entre as Replicatas			Células Cinza = Locus YSTR em doador Feminino				Células Brancas = Locus sem resultado		

Tabela 7. Genótipos obtidos para as amostras da validação do kit PowerQuant® M1 a M3 com PowerPlex® Fusion 6C após o preparo realizado pelo Hamilton STARlet comparado com os perfis obtidos previamente a partir de preparo manual.

Preparo Manual - CE1	Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2	Preparo Manual - CE1	Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2	Preparo Manual - CE1	Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2
----------------------	-------------------------------------	----------------------	-------------------------------------	----------------------	-------------------------------------

Locus	M1 0,025ng/µL	M1 X, Y	M1.1 0,025ng/µL	M2 0,025ng/µL	M2 X, Y	M2 0,025ng/µL	M2 X, Y	M2.1 0,025ng/µL	M3 0,025ng/µL	M3 X, Y	M3 0,025ng/µL	M3.1 0,025ng/µL
AMEL	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y
D3S1358	15, 16	15, 16	15, 16	15	15	15	15	15	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16
D1S1656	13, 17.3	13, 17.3	13, 17.3	16, 16.3	16, 16.3	16, 16.3	16, 16.3	16, 16.3	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15
D2S441	12, 15	12, 15	12, 15	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11
D10S1248	13, 15	13, 15	13, 15	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	13, 16	13	13	13	13
D13S317	9, 11	9, 11	9, 11	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	8	8	8	8
Penta E	12, 15	12, 15	12, 15	12, 21	12, 21	12, 21	12, 21	12, 21	5, 10	5, 10	5, 10	5, 10
D16S539	11, 12	11, 12	11, 12	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	9, 13	9, 13	9, 13	9, 13
D18S51	15, 16	15, 16	15, 16	10, 18	10, 18	10, 18	10, 18	10, 18	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17
D2S1338	18, 22	18, 22	18, 22	17, 20	17, 20	17, 20	17, 20	17, 20	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19
CSF1PO	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	10
Penta D	11, 12	12	11, 12	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	9, 12	10, 11	10, 11	10, 11	10, 11
TH01	8, 9.3	8, 9.3	8, 9.3	8	8	8	8	8	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9
VWA	17, 19	17, 19	17, 19	16, 20	16, 20	16, 20	16, 20	16, 20	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18
D21S11	28, 30.2	28, 30.2	28, 30.2	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	29, 31.2	29, 31.2	29, 31.2	29, 31.2
D7S820	10, 11	10, 11	10, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12
D5S818	13	13	13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	7, 11	7, 11	7, 11	7, 11
TPOX	8, 11	8, 11	8, 11	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9	8	8	8	8
D8S1179	11, 13	11, 13	11, 13	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15
D12S391	15, 19	15	15, 19	18, 23	18, 23	18, 23	18, 23	18, 23	15, 21	15, 21	15, 21	15, 21
D19S433	13	13	13	13	13	13	13	13	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14
SE33	15, 22	15, 22	15, 22	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22	28.2	28.2	28.2	28.2
D22S1045	15	15	15	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16
DYS391	10	10	10	11	11	11	11	11	11	11	11	11
FGA	22, 23	22, 23	22, 23	23, 24	23, 24	23, 24	23, 24	23, 24	22, 26	22, 26	22, 26	22, 26
DYS576	16	16	16	18	18	18	18	18	18	18	18	18
DYS570	18	18	18	18	18	18	18	18	17	17	17	17
Células azuis = Discordância entre as réplicas												



**Figura 2. Altura média dos picos das amostras M1-M3 da Validação do kit PowerQuant® amplificadas com PowerPlex® Fusion 6C em um Veriti™ por 29 ciclos. As eletroforeses capilares ocorreram nos analisadores genéticos Applied Biosystems® 3500 usando uma injeção de 1,2 kV por 15 segundos. Barras amarelas representam os valores das amplificações com diluição e preparo da placa de forma manual e eletroforese realizada no 3500 CE #1 [SN 26109-110]. Barras azuis representam os valores das amplificações com diluição e preparo da placa no STARlet e eletroforese realizada no 3500 CE #2 [SN 31179-010].**

**Tabela 8. Razão de Altura de Picos (PHR) para as amostras da M1 a M3 da Validação do kit PowerQuant® amplificadas com PowerPlex® Fusion 6C em um Veriti™ por 29 ciclos. Um mapa de calor de três cores foi usado para representar a menor Razão de Altura de Picos (vermelho) para a maior Razão de Altura de Picos (verde escuro). O mapa de calor**

permite uma rápida visualização da amplitude das Razões de Atura de Picos obtidas. Células em cinza indicam marcadores de Y-STR e as células brancas indicam presença de dropout no locus.

Locus	Preparo Manual - CE1		Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2		Preparo Manual - CE1		Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2		Preparo Manual - CE1		Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2	
	M1	M1	M1.1	M1.1	M2	M2	M2	M2	M2	M2	M2.1	M2.1
AMEL	96%	55%	84%	84%	82%	82%	80%	80%	80%	82%	71%	71%
D3S1358	82%	66%	79%	79%								
D1S1656	78%	81%	80%	80%	77%	77%	45%	45%	77%	77%	91%	91%
D2S441	75%	89%	72%	72%	87%	87%	62%	62%	87%	87%	85%	85%
D10S1248	78%	91%	86%	86%	80%	80%	95%	95%	80%	80%	66%	66%
D13S317	86%	95%	95%	95%	80%	80%	60%	60%	80%	80%	85%	85%
Penta E	72%	86%	84%	84%	70%	70%	50%	50%	70%	70%	82%	82%
D16S539	86%	64%	80%	80%	72%	72%	88%	88%	72%	72%	97%	97%
D18S51	87%	87%	81%	81%	86%	86%	81%	81%	86%	86%	82%	82%
D2S1338	93%	99%	75%	75%	82%	82%	72%	72%	82%	82%	94%	94%
CSF1PO												
Penta D	94%		89%	89%	73%	73%	73%	73%	73%	73%	70%	70%
TH01	90%	71%	92%	92%								
VWA	87%	90%	86%	86%	87%	87%	99%	99%	87%	87%	81%	81%
D21S11	85%	80%	95%	95%	72%	72%	57%	57%	72%	72%	60%	60%
D7S820	90%	99%	93%	93%	75%	75%	74%	74%	75%	75%	68%	68%
D5S818					88%	88%	80%	80%	88%	88%	40%	40%
TPOX	81%	87%	90%	90%	79%	79%	80%	80%	79%	79%	52%	52%
D8S1179	96%	96%	74%	74%	67%	67%	78%	78%	67%	67%	60%	60%
D12S391	85%		82%	82%	91%	91%	98%	98%	91%	91%	91%	91%
D19S433												
SE33	93%	82%	80%	80%	79%	79%	86%	86%	79%	79%	77%	77%
D22S1045					87%	87%	99%	99%	87%	87%	70%	70%
DYS391												

FGA	87%	60%	79%	75%	74%	96%	95%	93%	51%
DYS576									
DYS570									
Células cinzas = Locus Homozigoto/YSTR									
Células brancas = Dropout									

## Detecção de contaminação

Dois controlos negativos contendo apenas componentes do kit PowerPlex® Fusion 6C e a água ultrapura (Amplification Grade Water) apresentaram picos acima do limiar analítico estabelecido. A origem dos picos foi atribuída como sendo resultados de artefactos da eletroforese capilar e não como presença de DNA contaminante em alguma etapa da automação. (Tabela 9 e [Apêndice F](#)). Todos os outros controlos negativos estavam desprovidos de picos acima do limite analítico.

*Tabela 9. Resultados da avaliação de contaminação para controlos negativos a partir de placas preparadas pelo Hamilton STARlet.*

Picos de Contaminantes - PowerPlex® Fusion 6C preparadas pelo Hamilton Starlet		
Nome da Amostra	Picos acima do Limiar Analítico	Notas
NEG1_B01.hid	0	
NEG2_D01.hid	0	
NEG3_F01.hid	0	
NEG4_H01.hid	0	
NEG6_C02.hid	1	Aumento do ruído da linha de base no marcador D3S1358 (Alelo nomeado como "15", 61 RFU)
NEG7_E02.hid	0	
NEG8_G02.hid	0	
NEG9_B03.hid	0	
NEG10_D03.hid	0	
NEG11_F03.hid	0	
NEG12_H03.hid	0	
NEG14_C04.hid	0	
NEG15_E04.hid	0	
NEG16_G04.hid	0	
NEG17_B05.hid	0	
NEG18_D05.hid	0	
NEG19_F05.hid	1	Spike no marcador D12S391 (Alelo nomeado como "23", 55 RFU)
NEG20_H05.hid	0	
NEG21_A06.hid	0	
NEG22_C06.hid	0	
NEG23_E06.hid	0	
NEG24_G06.hid	0	
NEG25_B07.hid	0	
NEG26_D07.hid	0	
NEG27_F07.hid	0	

NEG28_H07.hid	0	
NegCtrl_B08.hid	0	

## Conclusões

Esta validação mostrou que o equipamento Hamilton STARlet prepara placas de PCR com diluições e alocações do mastermix do PowerPlex® Fusion 6C e das amostras diluídas de forma confiável e reprodutível. Os perfis produzidos de forma automatizada foram similares aos produzidos de forma manual. O equipamento Hamilton STARlet também não introduz contaminantes durante seu funcionamento.

Os estudos realizados nesta validação atendem aos critérios para uma validação interna e mostraram que o equipamento Hamilton STARlet é adequado para a diluição e preparação da placa de amplificação do kit PowerPlex® Fusion 6C e análises subsequentes em um laboratório de casos forenses.

## Referências Bibliográficas

1. Ensenberger MG, Lenz KA, Matthies LK, Hadinoto GM, Schienman JE, Przech AJ, Morganti MW, Renstrom DT, Baker VM, Gawrys KM, Hoogendoorn M, Steffen CR, Martín P, Alonso A, Olson HR, Sprecher CJ, Storts DR, Developmental validation of the PowerPlex® Fusion 6C System, *Forensic Sci. Int. Genet.* 21 (2016) 134–144
2. Federal Bureau of Investigation (2020) Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories; disponível em *Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories — LE* (fbi.gov)
3. International Organization for Standardization (2017) ISO/IEC 17025:2017 General Requirements for The Competence of Testing and Calibration Laboratories; disponível em <https://www.iso.org/standard/66912.html>
4. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (2016) Validation Guidelines for DNA Analysis Methods; available at <https://www.swgdam.org/publications>
5. PowerPlex® Fusion 6C System Technical Manual TMD045, Revision Date 12/18 from Promega Corporation; available at <https://www.promega.com/products/forensic-dna-analysis-ce/str-amplification/powerplex-fusion-6c-system/?catNum=DC2705#protocols>

6. PowerPlex® 6C Matrix Standard Technical Manual TMD046, Revision Date 10/15 from Promega Corporation; available at <https://www.promega.com/products/forensic-dna-analysis-ce/str-amplification/powerplex-matrix-standards/?catNum=DG4640#protocols>

7.

## Apêndice A – Número dos lotes dos reagentes e Número Serial dos equipamentos

Pipetas Pré-Amplificação (Modelo e Fabricante)	Número de Série	Data de Calibração
P2 Gilson	CE54789	17/04/2023
P10 Gilson	EE53081	21/12/2022
P20 Gilson	GA53570	19/12/2022
P100 Gilson	EC60393	19/12/2022
P200 Gilson	CD74331	22/12/2022
P1000 Gilson	EG50171	19/12/2022

Pipetas Pré-Amplificação (Modelo e Fabricante)	Número de Série	Data de Calibração
P2	CE54786	17/04/2023
P10	CG62004	18/04/2023
P20	EE86099	14/04/2023
P100	CE54231	13/04/2023
P200	EH87597	19/12/2022
P1000	CG53335	13/04/2023

Equipamento Pré-Amplificação	Fabricante	Número de Série	Versão do software
------------------------------	------------	-----------------	--------------------

Hamilton Starlet	Hamilton	D711	4.5.0.797 (Run Time Control)
------------------	----------	------	------------------------------

Suprimentos Pré-Amplificação	Número de catálogo do fabricante	Número do Lote	Data de Validade
PowerPlex® Fusion 6C System (200 Reações)	Promega DC2720	0000566268	20/06/2024
PowerPlex® Fusion 6C 5X Master Mix	Promega DP114A	0000565148	20/06/2024
PowerPlex® Fusion 6C 5X Primer Pair Mix	Promega DK419B	0000552829	20/06/2024
2800M Control DNA	Promega DD710A	0000560627	20/06/2024
Water, Amplification Grade	Promega DW099A	0000546380	20/06/2024

Suprimentos de Pós-PCR	Número de catálogo do fabricante	Número do lote	Data de validade
MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode (20 placas)	Applied Biosystems 4306737	I20H1	N/A

Suprimentos de Pós-PCR	Número de catálogo do fabricante	Número do Lote	Data de Validade
PowerPlex® 6C Matrix Standard	Promega DG4900	0000533076	14/03/2024
PowerPlex® 5C Matrix Standard	Promega DG4850	0000543115	31/07/2024
PowerPlex® Fusion 6C Allelic Ladder Mix	Promega DG417B	0000561838	20/06/2024
WEN Internal Lane Standard 500	Promega DG500A	0000569728	20/06/2024
Hi-Di™ Formamide	Applied Biosystems 4311320	2305899	N/A
POP-4™ Polymer for 3500/3500xL	Applied Biosystems 4393715	2308293	20/04/2024
3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array, 36cm – 03108226 (CE1)	Applied Biosystems 4404683	85	11/11/2023

<b>3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array, 36cm – 03108229 (CE2)</b>	Applied Biosystems 4404687	85	11/11/2023
<b>Cathode Buffer Container 3500 Series</b>	Applied Biosystems 4408256	2309935	26/05/2024
<b>Anode Buffer Container 3500 Series</b>	Applied Biosystems 4393927	2309880	08/06/2024

<b>Equipamento</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Número do Equipamento</b>
<b>3500 Genetic Analyzer (CE1) SN 26109-110</b>	Applied Biosystems	03108226
<b>3500 Genetic Analyzer (CE2) SN 31179-010</b>	Applied Biosystems	03108229
<b>Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (#1 left)</b>	Applied Biosystems	00438400 (Fusion 6C)

<b>Software</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Versão/Data</b>
<b>HID Data Collection Software (DCS)</b>	Applied Biosystems	v3 (CE1) v4.0.1 (CE2)
<b>GeneMapper™ ID-X Software</b>	Applied Biosystems	v1.6
<b>PowerPlex® Fusion 6C Panels/Bins/Stutter Files</b>	Promega	Versão 1.2
<b>3500 Genetic Analyzer (CE1) Spectral Calibration -</b>	Promega	29/01/2024
<b>3500 Genetic Analyzer (CE2) Spectral Calibration -</b>	Promega	26/01/2024

## Apêndice B – Disposição das amostras nas placas de amplificação

Placa corrida no Analisador genético CE# 2 (SN 31179-010)

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	Conhecida 7	Ladder	Conhecida 15	Ladder	Simulada 2	NEG21	Simulada 12	Amp_Pos
B	NEG1	Conhecida 4	NEG9	M2 0,025ng_ul	NEG17	Simulada 7	NEG25	Amp_Neg
C	Conhecida 7.1	NEG6	Conhecida 15.1	NEG14	Simulada 2.1	NEG22	Simulada 12.1	Ladder
D	NEG2	Conhecida 4.1	NEG10	M2.1 0,025ng_ul	NEG18	Simulada 7.1	NEG26	
E	Conhecida 3	NEG7	M1 0,025ng_ul	NEG15	Simulada 4	NEG23	Simulada 15	
F	NEG3	Conhecida 10	NEG11	M3 0,025ng_ul	NEG19	Simulada 9	NEG27	
G	Conhecida 3.1	NEG8	M1.1 0,025ng_ul	NEG16	Simulada 4.1	NEG24	Simulada 15.1	
H	NEG4	Conhecida 10.1	NEG12	M3.1 0,025ng_ul	NEG20	Simulada 9.1	NEG28	

## Apêndice C – Métodos de Análise

Analysis Method Editor ✕

General Allele **Peak Detector** Peak Quality SQ & GQ Settings

Peak Detection Algorithm: Advanced

Ranges	
Analysis	Sizing
Full Range	All Sizes
Start Pt: 0	Start Si... 0
Stop Pt: 10000	Stop Si 1000

Smoothing and Baseline

Smoot...  No...  
 Li...  
 He...

Baseline Wi... 51 pts

Size Calling Method

2nd Order Least Squ.  
 3rd Order Least Squa  
 Cubic Spline Interpol.  
 Local Southern Metho  
 Global Southern Meth

Peak Detection

Peak Amplitude Thre...

B:	45	R:	55
G:	60	P:	40
Y:	35	O:	60

Min. Peak Half... 2 pts  
Polynomial De... 3  
Peak Window ... 15 ...  
Slope Threshold



Peak Start:	0.0
Peak End:	0.0

Normalization

Use Normalization, ...

Factory Def...

Save As Save Cancel Help

	Estado de Goiás Secretaria de Estado da Segurança Pública Superintendência de Polícia Técnico-Científica			
	Versão n.º 02	Data 24/02/2022	Código FORM-LBDF-029	

ÁREA / UNIDADE EMITENTE: Seção de DNA Forense /LQTF/ICLR/SPTC

## Apêndice D - Razão de Altura de Picos média para as Amostras Conhecidas

Locus	Preparo Manual - CE1			Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2			Preparo Manual - CE1			Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2		
	Conhecida 3	Conhecida 3	Conhecida 3.1	Conhecida 4	Conhecida 4	Conhecida 4.1	Conhecida 7	Conhecida 7	Conhecida 7.1	Conhecida 7	Conhecida 7	Conhecida 7.1
MEL	3318	4002	4865	9143	4675	5207	5066	2138	234			
3S1358	2969	3373	3306	3718	1710	1756	2328	1311	149			
1S1656	2287	2925	3408	4641	2585	2834	1989	1227	141			
2S441	3647	3183	3544	3970	1723	1735	2702	1202	118			
10S1248	3392	3841	3900	4501	2352	2656	2890	1743	170			
13S317	4202	4009	4038	7478	3905	3628	4663	1956	227			
enta E	2900	3252	3338	3237	1600	1594	1830	946	966			
16S539	2119	2453	2834	4509	2057	2595	2407	1036	122			
18S51	2495	2642	3094	3272	1786	1804	2320	1110	126			
2S1338	2370	3290	3280	2605	1644	1703	1803	1313	143			
SF1PO	2727	3385	3661	4176	2468	2838	2829	2145	180			
enta D	2361	2687	2975	2251	1250	970	1642	829	896			
H01	2626	2669	3594	5027	3125	2924	2704	1487	211			
VA	5511	3542	5260	7355	4478	3627	4915	2302	295			
21S11	4028	3057	4302	4296	3132	2334	2473	1466	184			
7S820	3477	2736	3293	2806	1558	1408	2569	985	117			
5S818	3501	3234	4406	5069	3755	2998	3641	1812	235			
POX	4248	3213	3960	3539	2146	1718	3409	1479	197			
8S1179	3097	3413	3954	3950	2821	2281	2846	1442	157			
12S391	2031	2242	2919	2446	1545	1536	1474	796	122			
19S433	2498	2446	2858	2298	1661	1340	1621	816	110			
E33	5325	3383	3462	2874	1694	1369	3828	1869	145			
22S1045	5245	4005	4114	4771	2555	2021	5310	2092	218			
YS391	1423	2197	2793	3139	2471	2585	1669	1131	146			
GA	1815	2452	3537	3058	2397	2424	1831	1086	137			
YS576	2067	2263	2909	1945	1818	1312	1613	1114	129			
YS570	2014	2484	3095	2189	1921	1582	1904	1078	128			
ample verage	3174	3094	3619	4103	2420	2276	2811	1421	162			

células cinzas = LocusYSTR em doadores do sexo feminino

## Apêndice E - Razão de Altura de Picos média - amostras validação PowerQuant®

Preparo Manual - CE1	Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2	Preparo Manual - CE1	Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2	Preparo Manual - CE1	Preparo pelo Hamilton STARlet - CE2
----------------------	-------------------------------------	----------------------	-------------------------------------	----------------------	-------------------------------------



Versão n.º  
01

Data  
03/10/2017

Revisão  
Agosto/2019

Código  
FORM-LBDF-020

ÁREA / UNIDADE EMITENTE: Laboratório de Biologia e DNA Forense /ICLR/SPTC

US	M1 0,025ng/µl	M1 0,025ng/µl	M1.1 0,025ng/µl	M2 0,025ng/µl	M2 0,025ng/µl	M2.1 0,025ng/µl	M3 0,025ng/µl	M3 0,025ng/µl	M3.1 0,025ng/µl
EL	1091	118	362	713	402	560	552	412	428
S1358	1010	129	283	344	180	367	377	558	261
S1656	734	76	220	324	198	237	243	289	124
S441	903	83	219	316	155	229	378	327	169
S1248	706	87	268	431	240	307	309	279	217
S317	1083	94	393	531	284	369	540	311	282
ta E	798	97	236	271	153	175	320	285	180
S539	674	108	255	384	208	213	257	225	320
S51	922	91	284	329	220	201	346	419	179
S1338	625	78	292	357	272	282	215	316	186
F1PO	742	85	247	370	270	343	238	252	236
ta D	695	37	222	181	173	170	277	232	120
01	881	88	283	570	302	271	395	431	181
A	1604	128	444	682	351	468	463	568	240
S11	1055	106	348	406	191	283	271	456	190
S820	874	78	241	283	187	135	294	360	162
S818	726	56	218	471	176	210	227	304	145
DX	1134	107	346	358	219	293	384	391	176
S1179	1202	110	385	362	210	249	430	502	193
S2391	726	49	230	257	142	159	236	336	210
S9433	833	92	218	171	84	204	223	288	183
33	1709	246	512	351	431	436	374	378	291
S21045	1323	111	382	530	431	444	337	297	213
S391	502	88	225	327	216	325	156	325	99
A	548	71	214	296	208	232	195	359	159
S576	606	41	171	242	218	276	140	251	195
S570	577	62	231	202	184	158	191	262	52
dia da ostra	919	95	291	379	235	283	318	352	204

## Apêndice F - Imagens dos picos de contaminação

Artefato D3S1358



Estado de Goiás  
Secretaria da Segurança Pública e Administração Penitenciária  
Superintendência de Polícia Técnico-Científica



Versão n.º  
01

Data  
03/10/2017

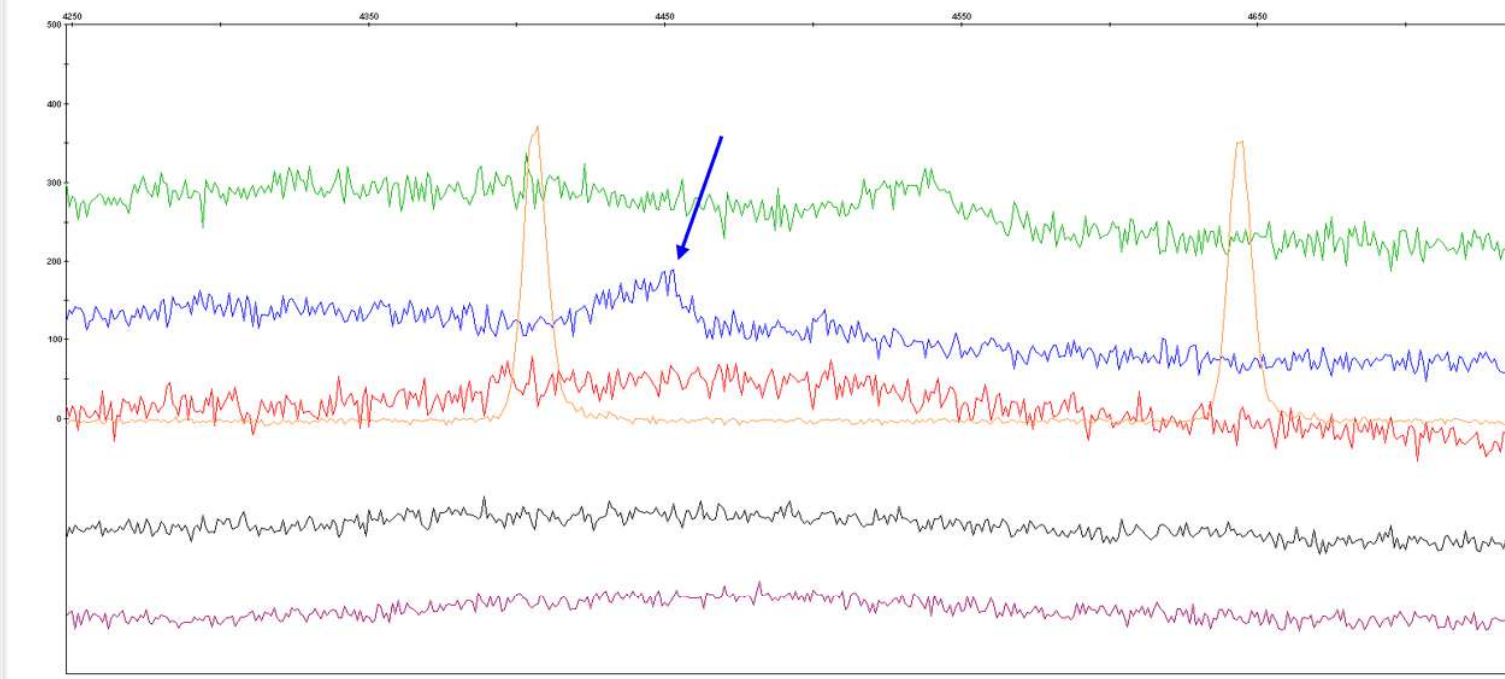
Revisão  
Agosto/2019

Código  
FORM-LBDF-020

ÁREA / UNIDADE EMITENTE: Laboratório de Biologia e DNA Forense /ICLR/SPTC



Info Raw Data EPT Data  
NEG6\_C02.hid





Versão n.º  
01

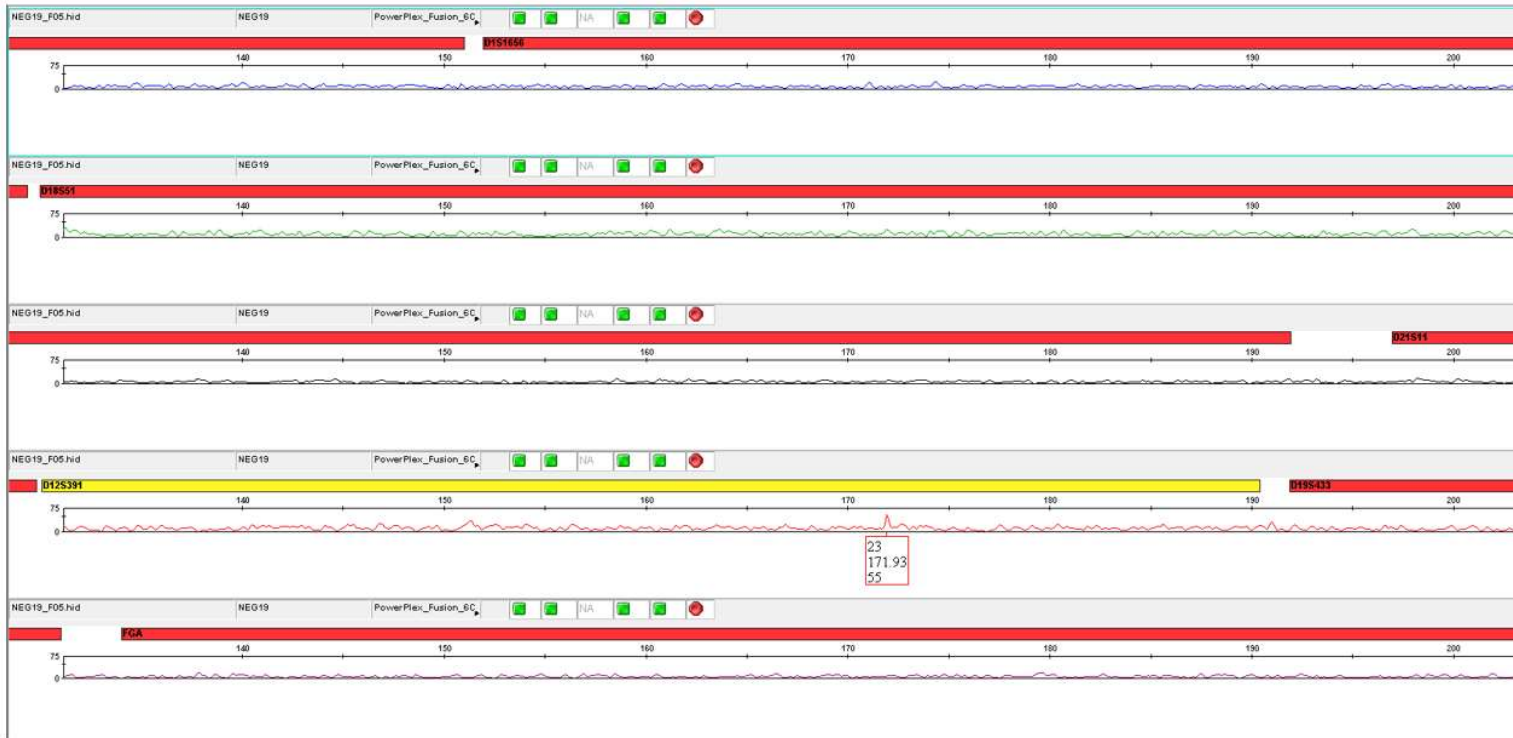
Data  
03/10/2017

Revisão  
Agosto/2019

Código  
FORM-LBDF-020

ÁREA / UNIDADE EMITENTE: Laboratório de Biologia e DNA Forense /ICLR/SPTC

### Artefato D12S391





Estado de Goiás  
Secretaria da Segurança Pública e Administração Penitenciária  
Superintendência de Polícia Técnico-Científica



Versão n.º  
01

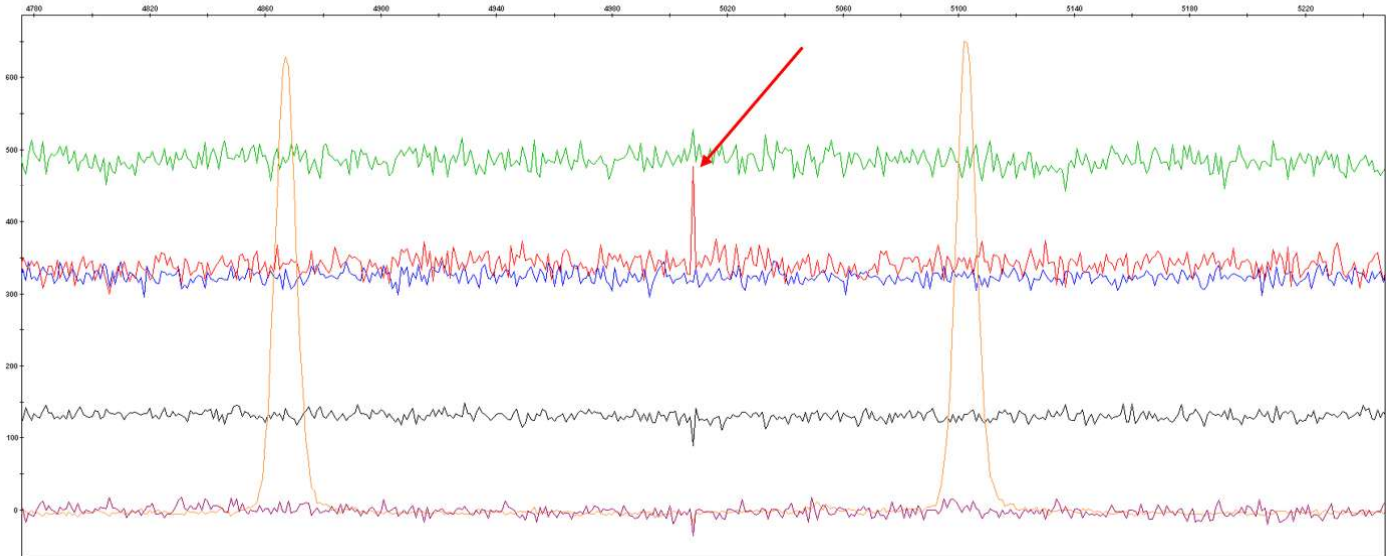
Data  
03/10/2017

Revisão  
Agosto/2019

Código  
FORM-LBDF-020

ÁREA / UNIDADE EMITENTE: Laboratório de Biologia e DNA Forense /ICLR/SPTC

Info Raw Data EPT Data  
NEG19\_F05.hid



Os resultados obtidos indicam que o método foi validado, autorizado e é adequado para o uso pretendido.

Supervisor Técnico

ADVALDO CARLOS DE SOUZA NETO:01962444120  
Assinado de forma digital por ADVALDO CARLOS DE SOUZA NETO:01962444120  
Dados: 2025.09.09 08:45:47 -03'00'

Data

09/09/2025