
Hematologia Forense

CLAUDEMIR RODRIGUES DIAS FILHO

1. Introdução

Quando do levantamento de um local de crime, nada detém mais a atenção de um Perito Criminal do que um vestígio cuja a análise possa responder a uma das perguntas do Heptâmetro de Quintiliano. E não poderia ser diferente: ao saber o que aconteceu, quem esteve envolvido, como se desenvolveu, onde e quando se passou, e que meios foram empregados o Perito Criminal elucida qualquer fato.

Um dos vestígios mais proeminentes em locais de crime, especialmente àqueles relacionados aos crimes contra a vida, é sem dúvida alguma o sangue. Por meio de sua análise, é possível atinar não apenas quem esteve ali presente, mas também ponderar sobre a dinâmica dos eventos que naquele sítio se sucederam. A compreensão da análise sanguínea, sua interpretação e repercussão na esfera jurídica constituem o arcabouço de estudo da Hematologia Forense.

Neste capítulo, são discutidos aspectos identificadores e reconstrotores das manchas de sangue. Inicialmente, são abordados métodos que possibilitam a identificação de uma mancha de sangue como tal e seu apontamento como sendo de origem humana ou não. Na segunda parte são apresentadas de forma introdutória as análises de padrões de manchas sanguíneas, ilustrando o potencial deste método para a proposição da dinâmica envolvida no fato em investigação.

2. Hematologia forense identificadora

Antes de qualquer interpretação de um vestígio é necessário saber qual a sua natureza. A importância deste preceito vai além do direcionamento acerca do tipo de exame a ser realizado, pois um local de crime é dotado de diversos materiais contaminantes e que, portanto, carecem de certo cuidado ao manuseio. Nesta circunstância, ao notar uma mancha de substância avermelhada sobre qualquer superfície, o observador tende a ser tomado por uma hipótese clara sobre sua origem: “a mancha avermelhada é de sangue”. É sobre os méto-

dos que permitem testar essa hipótese que esse subcapítulo se trata. Aqui não será abordado o uso de manchas de sangue para fins de identificação individual, pois esta temática é tratada no capítulo 6 (Genética Forense) desta obra.

A literatura traz diversos métodos capazes de apontar se uma mancha hematóide é ou não é de sangue. Tais métodos procuram tornar interpretável se há ou não na amostra componentes encontrados no tecido sanguíneo. Sabemos, a título de exemplo, que a hemoglobina está presente apenas em células sanguíneas (nas hemácias, também conhecidas por eritrócitos ou glóbulos vermelhos). Logo, a presença de hemoglobina em uma mancha avermelhada seria uma forte sugestão de que a tal mancha é de sangue.

2.1. Testes de orientação

Também chamados de testes presuntivos, os testes de orientação são utilizados para uma verificação rápida, por vezes ainda no local de coleta da amostra, para orientar os exames periciais seguintes. Não são métodos precisos, pois vários fatores influenciam seus resultados, mas apontam a possibilidade de uma amostra conter ou não sangue.

Alguns métodos sugerem uma abordagem exploratória da atividade enzimática da hemoglobina. É o caso dos testes colorimétricos baseados na oxidação da fenolftalina (conhecido por Kastle-Meyer), da benzidina (conhecido por Adler-Ascarelli), do verde malaquita, entre outros. Desde o século XIX, sabe-se que a hemoglobina possui atividade de peroxidase, sendo capaz de decompor peróxidos, como a água oxigenada (peróxido de hidrogênio), e liberar radicais hidroxila em ambiente aquoso (Schönbein, 1863), apesar de hoje reconhecermos que, no sangue, a catalase eritrocitária tem atividade peroxilítica muito superior à hemoglobina (Mueller et al., 1997 e Anand et al., 1994).

A decomposição de peróxido de hidrogênio e a reação de oxidação de cromógenos como a fenolftaleína, a benzidina ou o verde malaquita, é lenta em condições normais. Porém, pequenas quantidades de sangue (contendo hemoglobina e catalase eritrocitária), dada sua atividade enzimática, catalizam a reação de decomposição, e o oxigênio molecular (um dos produtos) acelera a oxidação do cromógeno. Em um teste de orientação, por exemplo, a benzidina é oxidada a sua forma quinoidal de cor azul esverdeada na presença do peróxido e de sangue. A cor azulada revela a presença de hemoglobina e catalase eritrocitária e, portanto, a presença de sangue. A benzidina, porém, é carcinogênica¹ e seu uso não é recomendado por este motivo

1 A literatura recomenda a substituição da benzidina pela 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (também conhecida pela sigla TMB), já que tal substância apresenta baixa toxicidade quando comparada com a primeira, não sendo observados os efeitos mutagênicos (Chung et al., 2000).

(Anand et al., 1994). O verde malaquita também possui toxicidade reportada na literatura, com possível associação à mutagênese hepática quando ingerido, apesar de mais estudos serem necessários (Culp et al., 2002). Fenolftaleína, apesar de menos sensível, deve, portanto, ser o cromógeno de escolha mais recomendado nos teste de orientação.

No caso da fenolftaleína, uma pequena amostra questionada é coletada em um suabe umedecido sobre o qual se adiciona uma gota do Reativo de Kastle-Meyer (uma solução alcalina e incolor de fenolftalína – nome dado à fenolftaleína em sua forma reduzida). Uma gota de água oxigenada é adicionada em sequência e a coloração rósea aponta resultado positivo (figura 1). Dias Filho & Antedomenico (2010) sugerem o uso de um Reativo de Kastle-Meyer preparado com solução de hidróxido de sódio (20g de NaOH adicionados à 90ml de água destilada) acrescida de 1g de fenolftaleína dissolvida em 10ml de etanol e de 20g de zinco em pó, aquecido brandamente até que a solução rósea se torne transparente.

O verde malaquita em sua forma reduzida é estruturalmente semelhante à fenolftaleína e o princípio do teste é o mesmo, diferindo, apenas, em sensibilidade e na coloração do resultado positivo (neste caso, verde). No preparo do reativo, há variações no pH ótimo da solução dependendo do cromógeno utilizado. O mesmo é válido para os testes de orientação baseados na benzidina e suas variantes (como o TMB).

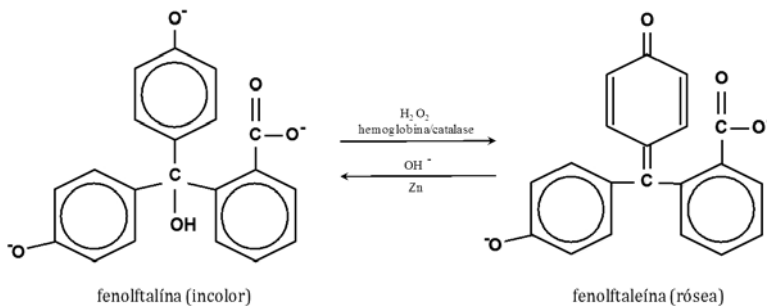


Figura 1. Reação do teste de orientação para sangue baseado na oxidação da fenolftalína à fenolftaleína (Teste de Kastle-Meyer).

2.2. Testes de luminescência

Os testes de luminescência são um caso particular dos testes de orientação em que o resultado positivo é alcançado quando a reação libera energia na forma de luz. São recomendados quando a área a ser buscada por vestígios de sangue é extensa e manchas (latentes) não são visualmente aparentes, como em situações em que a superfície foi limpa ou lavada.

O reagente luminescente reage indiretamente com o grupo heme da hemoglobina, após reação oxidativa, produzindo uma luminescência que pode ser vista por olhos desarmados em escuridão ambiente. Os reagentes luminescentes mais conhecidos para este fim são o luminol e a fluoresceína, sendo o primeiro mais amplamente utilizado dada sua disponibilidade comercial (figura 2).

Trata-se de um teste cuja sensibilidade é bastante alta, sendo capaz de revelar manchas latentes mesmo após anos da presença de sangue num suporte (Almeida, 2009). Mesmo a tentativa de ocultar resíduos de origem sanguínea pode não ser efetiva, conforme tem sido reportado na literatura. Miranda et al. (2016) ilustraram essa questão ao relatarem um estudo de caso em que o luminol apresenta reações positivas para sangue mesmo em paredes que sofreram o entintamento após o evento que originou as manchas.



Figura 2. Reação de luminescência do luminol em piso previamente limpo. Foto: José Cláudio Gonçalves, Fotógrafo Técnico-Pericial, Superintendência da Polícia Técnico Científica/SP, 2009.

2.3. Limites dos testes de orientação

Toda conclusão de um exame pericial deve ser pautada não apenas pelos resultados em si, mas pelos limites do método utilizado. Os testes de orientação, como já exposto, apontam a possibilidade de uma amostra possuir sangue. Logo, qualquer afirmação categórica de que uma mancha é de sangue lastreada por um teste presuntivo é, no mínimo, temerária. Uma assertiva mais conservadora que a afirmação categórica seria aquela que meramente não descarta a possibilidade da origem sanguínea. Idealmente, outros

métodos devem ser empregados para todos os testes de orientação de resultado positivo. Isto, pois, como regra geral, o resultado negativo é definitivo.

Como visto, os testes de orientação para sangue costumam avaliar a atividade catalítica de peroxidase da hemoglobina e da catalase, sendo interpretados como positivo quando há atividade de peroxidase na amostra, e negativo quando não há. Porém, deve-se ressaltar que, em tese, qualquer composto capaz de agir como peroxidase ou de oxidar o cromógeno resultará em leitura positiva. Peroxidases estão presentes em frutos e vegetais e, portanto, podem apresentar resultado falso positivo. Mostarda, ferro, hipoclorito, sais de cobre, entre outros agentes oxidantes mudam a coloração do suabe amostrado antes da adição do peróxido de hidrogênio e não devem ser confundidos com o resultado positivo.

Sawaya & Rolim (2009) reportam que os testes de orientação cujo agente redutor é a fenoltaleína ou o verde malaquita não são sensíveis à peroxidase de frutas e vegetais. O resultado falso positivo pode ser evitado para as peroxidases encontradas em cebola, batata e repolho, segundo Jungreis (1997), desde que a amostra seja pré-aquecida a 100°C antes do teste.

Há de se considerar, ainda, as particularidades relativas à sensibilidade de cada teste presuntivo. A relevância desta observação está na análise dos resultados negativos. Como dito anteriormente, o resultado negativo é definitivo, sendo, em geral, tratado como prova de ausência. Há apenas uma exceção: quando a concentração hemática na amostra é inferior ao limite de detecção do teste. Equivale a dizer que mesmo nas conclusões pautadas em resultados negativos se deve atentar aos limites do teste, sendo, neste caso, mais conservador concluir que, se presente na amostra testada, o sangue está em concentração inferior a sensibilidade do teste empregado.

Consigna-se, assim, a importância de se conhecer os limites dos métodos empregados antes da aferição de resultados e da exarcação de quaisquer conclusões periciais.

2.4. Testes de certeza e de origem humana

Os testes de certeza, como o nome sugere, confirmam a presença de sangue na amostra. Alguns destes testes também permitem uma verificação mais específica, apontando para uma origem hemática humana, como será explorado a seguir.

Mediante reações com certos compostos, o grupo heme da hemoglobina forma cristais insolúveis em água. A formação destes cristais é confirmatória para a presença de sangue na amostra, consistindo nos testes químicos mais antigos para a verificação da presença de hemoglobina. Apesar dos testes por for-

mação de cristais serem muito menos sensíveis que os testes de orientação, são empregados como confirmatórios por terem alta seletividade (Jungreis, 1997).

Cristais de Teichman são formados quando uma solução de brometo de potássio, iodeto de potássio e cloreto de potássio dissolvidos em ácido acético glacial reage com a hemoglobina mediante aquecimento. Inicialmente, a reação converte a hemoglobina em hemina e, em seguida, os haletos inorgânicos reagem com a hemina, formando cristais de hemina com morfologia rombóide e de coloração acastanhada.

Já os cristais de Takayama são formados quando empregado o teste que leva o mesmo nome. O grupo prostético da hemoglobina tem a propriedade de se ligar a moléculas nitrogenadas, como amônia, nicotina e piridina, formando complexos chamados de hemocromogênio cuja estrutura é característica em coloração e forma de cristal. A reação consiste de uma hidrólise alcalina, separando o grupo prostético da globina. Com o calor, o Fe^{3+} (férico) é reduzido a Fe^{2+} (ferroso), que se liga à piridina, formando um composto insolúvel denominado ferroporofirina de piridina. Esses cristais costumam ser avermelhados e agrupados em feixes peniformes ou bastoniformes.

Há, ainda, os testes confirmatórios baseados em mecanismos imunológicos que se relacionam a reações envolvendo anticorpos contra componentes moleculares do sangue humano. Neste caso, os resultados positivos não apenas confirmam a presença de sangue, como atestam que o sangue é de origem humana. Por este motivo, são por vezes chamados de teste de origem humana.

O teste de Vacher-Sutton (Vacher et al., 1955) se caracteriza pela inibição da antiglobulina humana. O sangue humano contém globulinas que, se presente na amostra, inibirão a atividade do soro antiglobulina humana (soro Coombs, anti-IgG humana), evitando que hemácias sensibilizadas por anticorpos Rh se aglutinem. Logo, a ausência de aglutinação é avaliada como resultado positivo para sangue humano, pois hemácias revestidas por IgG (imunoglobulina G) se agrupariam na presença de anticorpos anti-IgG como o soro Coombs. É um teste muito sensível e mesmo amostras de sangue humano bastante diluídas podem ser identificadas.

A desvantagem do teste de Vacher-Sutton é que carece de um preparo laboratorial para o procedimento e, portanto, é inviável sua utilização em campo. Além disso, lida com a detecção da atividade imunológica de uma proteína (IgG) e amostras forenses, dada suas características próprias, podem vir degradadas e, neste caso, estaríamos diante de um falso negativo (a IgG degradada poderia perder sua atividade imunológica). A alternativa está nos testes imunocromatográfico que, apesar de mais caros, são práticos, rápidos e de fácil interpretação. Nestes testes, uma membrana cromatográfica é impregnada em certa região (chamada de T – tratamento) com anticor-

pos policlonais estacionários anti-hemoglobina e em outra (denominada C – controle) com anticorpos estacionários anti-IgG. Na zona de aplicação da amostra diluída em tampão há uma impregnação de anticorpos monoclonais móveis anti-hemoglobina humana conjugado com partículas de um corante.

Quando a amostra contendo hemoglobina humana é aplicada, os anticorpos monoclonais corados se ligam à hemoglobina e migram por capilaridade pela membrana. Na região de tratamento, os anticorpos policlonais estacionários também atacam a hemoglobina, formando um conjugado anticorpo-antígeno-anticorpo (monoclonais – hemoglobina – policlonais) que concentra as partículas de corante de forma que uma linha se torna visível em T. Os anticorpos monoclonais excedentes continuam a percorrer a membrana até a região controle, onde são imobilizados pelos anticorpos anti-IgG, concentrando as partículas de corante conjugadas e formando uma linha na zona C (figuras 3A e 3B).

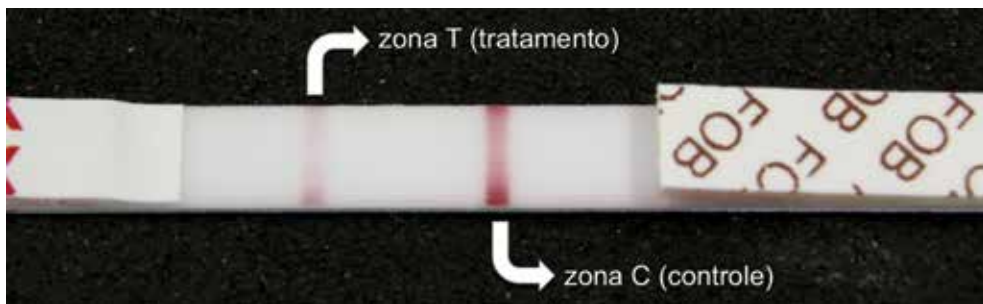


Figura 3A. Fotografia de teste imunocromatográfico do tipo fita para sangue humano de resultado positivo. O negativo apresentaria apenas a linha na zona C (controle). Foto: Gilberto Toyota, Fotógrafo Técnico-Pericial, Superintendência da Polícia Técnico Científica/SP; e Claudemir R. Dias Filho, Perito Criminal, Superintendência da Polícia Técnico Científica/SP, 2011.



Figura 3B. Fotografia de teste imunocromatográfico do tipo cassete para sangue humano de resultado positivo. O negativo apresentaria apenas a linha na zona C (controle). Foto: Claudemir R. Dias Filho, Perito Criminal, Superintendência da Polícia Técnico Científica/SP, 2017.

Os testes imunocromatográficos são extremamente específicos e sua sensibilidade pode atingir 1:1.000.000 (Longo et al., 2011). Antiguidade, putrefação e contaminação por sedimento ou microorganismos não costumam afetar os resultados. Em raras oportunidades, entretanto, podem ocorrer falsos negativos quando a amostra é submetida a certos detergentes, alvejantes ou é exposta a reativos com alto poder oxidativo como o luminol (Hochmeister et al., 1999 e Vaz & Kobachuck, 2017). Além disso, um falso negativo pode ocorrer quando a amostra testada está muito concentrada, resultando no chamado “efeito *book*”, que consiste na hemoglobina livre em excesso atingir a zona T antes do complexo hemoglobina-anticorpo monoclonais (Stadler et al., 2017). Nesse caso, a hemoglobina excedente, que não possui marcação com corante, se ligará aos anticorpos estacionários, o que inviabilizará o acúmulo de corante e, por consequência, não formará uma linha visível em T. A melhor forma de evitar o “efeito *book*” é diluir a amostra a ser testada.

Não se pode deixar de apontar a possibilidade, ainda que remota, de um falso positivo possível na eventualidade de o sítio de ação do anticorpo monoclonal ser conservado na hemoglobina de outras espécies, isto é, se a sequência de aminoácidos alvo for comum entre a hemoglobina humana e de outras espécies. Considerando a filogenia animal, isso ocorreria com maior probabilidade entre humanos e primatas. De fato, falsos positivos já foram reportados com sangue de orangotango (*Pongo pygmaeus*). A literatura ainda aponta que sangue de furões (*Mustela putorius furo*) também reagem positivamente (Hermon et al., 2003). Porém, apesar da evidente necessidade de se conhecer os falsos positivos do teste, dada a baixa probabilidade de um desses animais ter transitado em um local de crime no Brasil, a importância dessa discussão, sob a ótica prática, é pequena.

Outra aplicação que os testes imunocromatográficos vêm permitindo é a diferenciação entre sangue periférico e sangue menstrual (Holtkötter et al., 2017). Numa mesma membrana cromatográfica, além dos anticorpos contra a hemoglobina humana, é possível a adição de anticorpos contra os produtos da fibrinólise, como o dímero D. Durante a menstruação, a fibrinólise é o processo responsável pela decomposição dos coágulos de fibrina; é um processo contrário ao da coagulação sanguínea. Enquanto no sangue periférico se espera encontrar apenas hemoglobina nos testes forenses, numa amostra de sangue menstrual é esperada a presença não apenas de hemoglobina, mas também de dímero D. Logo, num teste imunocromatográfico deste tipo, ao apontar que existe hemoglobina humana e dímero D na amostra, seria possível considerar que não apenas a amostra é de origem humana, mas também de origem menstrual, portanto feminina.

3. Hematologia forense reconstitutiva

Os padrões formados por manchas de sangue e os mecanismos envolvidos em suas formações são os objetos de estudo da hematologia forense reconstitutiva. Por esse motivo, se pode atribuir o título de sinônimo à análise de padrões de manchas de sangue. O fato é que ambas visam interpretar manchas de sangue encontradas em locais de crime ou sobre objetos de interesse criminal e, a partir destas, apontar as hipóteses mais prováveis em termos de eventos que as teriam originado.

No Brasil, poucos cursos de formação para carreiras periciais, mesmo aqueles específicos para Perito Criminal, abordam o tema com propriedade. São poucos os especialistas e, portanto, também são escassos os questionamentos acerca do tema quando utilizado em análises periciais. Aspectos terminológicos e técnicos são modestos na literatura pericial brasileira, de modo que os profissionais que usam desse conhecimento recorrem à literatura internacional, o que resulta em traduções divergentes e estrangeirismos que dificultam o entendimento do laudo pericial. Entendemos que esse panorama deve mudar o mais rápido possível, sendo este um dos semblantes que motivou este subcapítulo.

3.1. Um modelo simplificado: altura de queda em gotejamento isolado (estático)

A compreensão dos mecanismos envolvidos na formação dos padrões de manchas exige conhecimentos que vão além daqueles comumente atribuídos às Ciências Biológicas, sendo necessárias noções de física e matemática. O entendimento dos mecanismos de formação de morfologias de manchas pode demandar saberes complexos, de forma que a melhor maneira de se introduzir o tema é por meio de um modelo simplificado, com poucas variáveis de estudo. A partir da compreensão de um modelo simples, complexidade pode paulatinamente ser inserida, aumentando as variáveis estudadas e, com isso, facilitando o pleno entendimento das energias e fatores interferentes envolvidos no processo de formação da mancha.

O modelo mais simples e de fácil entendimento é aquele que envolve uma gota de sangue entrando em voo a partir do desprendimento passivo e acelerada apenas pela gravidade. É um modelo de avaliação de um gotejamento isolado e estático frente a altura de queda. O Teorema de Conservação da Energia Mecânica justifica a relação entre a altura de queda de uma gota de sangue e o diâmetro da mancha formada no suporte alvo inelástico e perpendicular à trajetória. Quanto maior a altura de queda livre de uma gota de sangue, mais energia potencial possui esta gota. Na iminência de tocar o

pavimento, toda a energia mecânica da gota é cinética, isto é, toda a energia potencial foi transformada em velocidade ao longo da queda. Ao impactar com o anteparo, boa parte dessa energia cinética é dissipada em deformação, o que pode ser avaliado pelo diâmetro da mancha de sangue resultante da gota. Logo, quanto maior a altura da queda, maior a energia potencial, conseqüentemente maior é a velocidade na iminência do impacto e maior a deformação (diâmetro) da mancha formada.

Quando se fala em diâmetro da mancha formada se pressupõe que a deformação da gota ao atingir o pavimento resultará em uma mancha circular. Em trajetória perpendicular (à 90°) com a superfície de impacto, esse pressuposto é verdadeiro. Porém, a partir de certa altura, como resultado do impacto e da dissipação da energia, podem se formar manchas cujas bordas são coroadas que eventualmente são acompanhadas de acúleos (projeções espinhosas) e gotas satélites. Tanto a coroa nas bordas, quanto os acúleos apresentam orientação radial à medula da mancha. De forma análoga, as gotas satélites formadas tenderão a evidenciar uma área de convergência ao centro da mancha principal. Adam (2012) reporta que a probabilidade de coroação das bordas, de formação de acúleos e do desprendimento de gotas satélites (nesta ordem) é proporcional à velocidade do impacto e, conseqüentemente, à altura de queda.

A relação positiva entre a altura de queda e o diâmetro da mancha seria linear no modelo simplificado, no qual não existe qualquer resistência oposta à gravidade durante a queda. É o que seria esperado se a queda ocorresse no vácuo. Uma variável cujo estudo pode ser implementado neste modelo mais simples é justamente a resistência do ar durante a queda, situação em que a relação entre altura e diâmetro deixa de ser linear (figura 4). Isso porque a medida que a gota cai, a força de resistência do ar aumenta, até que esta se iguale em módulo à força peso atuante sobre a gota. Assim, a gota atinge, portanto, sua velocidade terminal, deixando de acelerar vez que a resultante das forças sobre ela será igual a zero (força peso e força de resistência do ar têm sentidos opostos). Deste ponto em diante o deslocamento vertical da gota deixa de ser em movimento retilíneo variado e passa a ser retilíneo uniforme. Como a velocidade se torna constante, a deformação quando do impacto com o anteparo também passa a ser a mesma a partir de determinada altura.

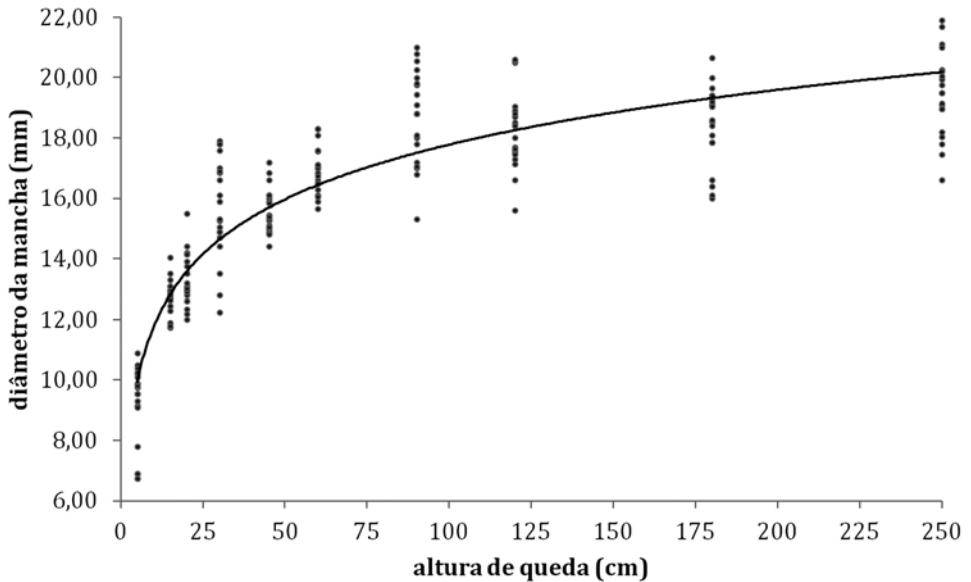


Figura 4. Gráfico ilustrando o resultado de experimento realizado pelo gotejamento de gotas únicas (volume aproximado de 0,05ml) sobre papel tipo sulfite à 90° de ângulo de impacto, a partir de diferentes alturas de queda.

A velocidade terminal de uma gota no ar depende de sua massa e área projetada. Consequentemente, depende do volume da gota. Uma gota típica possui cerca de 0,05ml e, nessas condições, atinge a velocidade terminal de cerca de 7,65m/s em uma altura de queda de aproximadamente 6,8m (MacDonell, 1993). Equivale a dizer que, gotas de 0,05ml em queda livre de alturas superiores a 6,8m geram manchas de sangue de mesmo diâmetro que aquelas que caem de 6,8m, sendo o diâmetro das manchas tão menor quanto menor for a altura de queda.

Outra variável que pode ser estudada no modelo simples é a influência das características da superfície do anteparo. Nem sempre a morfologia da mancha gerada por uma gota é razoavelmente circular, mesmo a um ângulo de impacto de 90°, pois a superfície sobre a qual o sangue cai pode ser um fator de grande influência sobre a morfologia. Como regra geral, quanto mais rígida e menos porosa a superfície, menos deformado é o resultado da mancha (em relação à morfologia circular), pois a tensão superficial da gota de sangue tende a se manter nessa situação, apesar da deformação geométrica. Superfícies salientes e de textura áspera e porosa rompem a tensão superficial da gota com mais facilidade, aumentando a deformação da mancha.

Talvez por esse motivo, associado à possível variabilidade volumétrica de uma gota, alguns autores defendem que não se deve estimar a altura de queda simplesmente tomando a medida do diâmetro de uma mancha originada por gotejamento (MacDonell, 1993; James et al., 2005). Porém, não se

deve ignorar o potencial didático dessa abordagem para a fiel assimilação dos mecanismos de formação de morfologias hematóides. Ademais, conhecendo as características do pavimento e o volume aproximado da gota que a originou, as estimativas de altura de queda são razoavelmente precisas. Exceções devem ser apontadas quando do gotejamento em superfícies muito rugosas ou porosas, situações em que as manchas formadas perdem o caráter circular, dificultando a tomada do diâmetro.

Não se recomenda a estimativa de altura de gotejamento sem o prévio conhecimento das duas principais variáveis citadas (características do pavimento e volume da gota que originou a mancha), pois a relação entre altura de queda e diâmetro da mancha é extremamente dependente destas. Na prática pericial, nem sempre é fácil estimar estas variáveis.

As características do pavimento quase sempre podem ser testadas durante a análise, mas o volume da gota que originou a mancha costuma ser de difícil estimativa. Isto, pois, o volume de uma gota de sangue é função da superfície de formação passiva desta. A quantidade de sangue necessária para romper a tensão superficial estabelece o volume da gota formada de maneira que uma superfície de origem maior acarretará em uma maior tensão superficial e, conseqüentemente, em uma gota com maior volume, e vice-versa. Assim, o volume da gota pode variar de $13\mu\text{l}$ (quando originada a partir de um fio de cabelo) à $160\mu\text{l}$ (quando gotejada de tecido de algodão felpudo embebido em sangue).

3.2. Direcionalidade e Região de Origem Bidimensional

A relação entre altura de queda e diâmetro da mancha formada somente pode ser estabelecida se o ângulo formado entre a trajetória da gota e a superfície alvo for igual à 90° . Esta é a situação normalmente encontrada quando uma gota em queda livre, desprendida apenas pela ação gravitacional, atinge o pavimento, sendo, portanto, evidente a direção e o sentido de impacto.

Porém, nem sempre o ângulo de impacto é perpendicular à superfície. Quando o ângulo é diferente de 90° , a mancha formada pela gota tende a ser ovalada (elíptica). Em uma análise bidimensional, a direção da trajetória antes do impacto é coincidente com o eixo longitudinal da mancha. Já o sentido é determinado pela extremidade longitudinal mais aguda, chamada de cauda.

Essa mancha angular pode ser dividida em duas partes, conhecidas por cabeça e cauda. A cabeça é formada pela porção elíptica da mancha, ao passo que a cauda é a porção disforme com projeções agudas. A formação da mancha ocorre da cabeça para a cauda, sendo o ponto de impacto coincidente com a extremidade da cabeça oposta à cauda. Assim, o sentido da trajetória da gota que formou a mancha é o que aponta da cabeça para a cauda (figura 5).

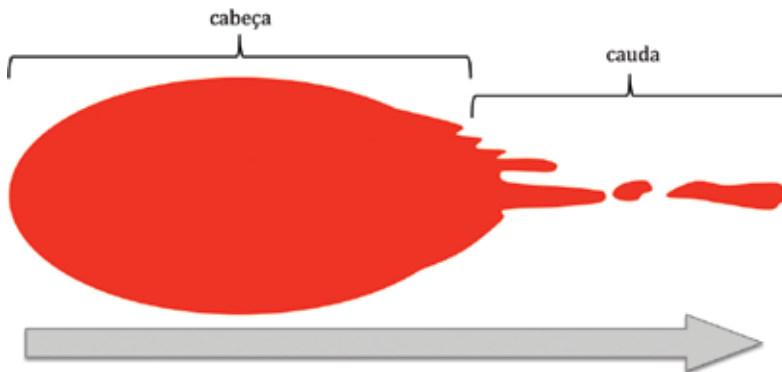


Figura 5. Ilustração de uma mancha de sangue formada a partir de uma gota impactada em trajetória oblíqua ao plano da superfície alvo. A seta aponta o sentido da trajetória da gota que formou a mancha. Imagem: Claudemir R. Dias Filho, Perito Criminal, Superintendência da Polícia Técnico Científica/SP.

Sabendo a direção e o sentido de formação de uma mancha, é possível encontrar a região de origem aproximado em duas dimensões (também chamado de área de convergência) a partir de um conjunto de manchas angulares. Ao traçar linhas sobre o eixo longitudinal de cada mancha individualmente, se notará que tais linhas convergem a uma área comum. Esta área de intersecção é a região de origem bidimensional do sangue que originou as manchas (figura 6). Equivale dizer que a região no espaço que coincide com o ponto de partida do sangue que originou as manchas está sobre um eixo perpendicular à superfície de impacto na região de origem bidimensional encontrada.

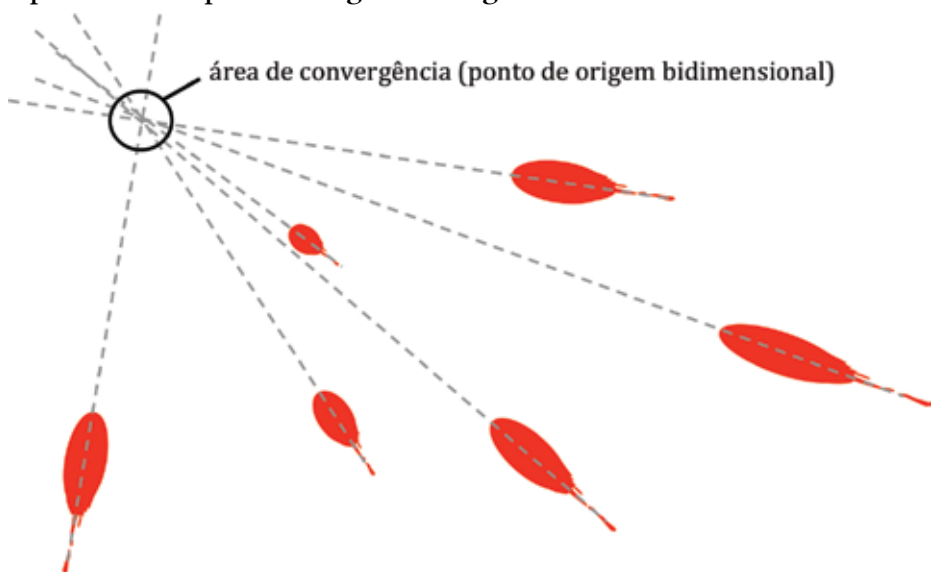


Figura 6. Ilustração da estimativa bidimensional da região de origem a partir de um conjunto de manchas de sangue formadas por trajetórias oblíquas à superfície alvo. Imagem: Claudemir R. Dias Filho, Perito Criminal, Superintendência da Polícia Técnico Científica/SP.

hematologia reconstituidora. Desde a primeira edição desta obra, coube a este capítulo, portanto, remover a perícia brasileira da inércia no que se refere ao assunto e fomentar discussões e aperfeiçoamentos futuros.

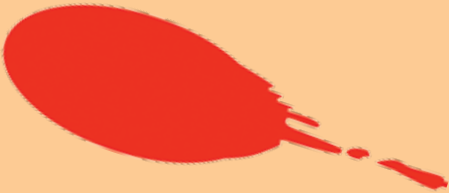
É também relevante esclarecer que a hematologia forense muitas vezes trabalha concorrentemente com outros exames periciais. É frequente que seja utilizada como método subsidiário em levantamentos de local de crime e, portanto, suas conclusões devem ponderar pelo conjunto de vestígios disponíveis e pela integralidade dos resultados analítico-periciais oriundos desses.

Àqueles que pretendem utilizar os conhecimentos aqui discutidos na rotina pericial, vale a ressalva que a pesquisa e o treinamento serão essenciais para adquirir a desenvoltura e a segurança para aplicação dos métodos. No campo da hematologia forense reconstituidora, é importante ressaltar que a repetição e a experiência terão impacto vultoso no discernimento entre os padrões por parte do profissional. É evidente que o treinamento terá seu papel, mas é da rotineira aplicação desses conhecimentos que emerge competência neste campo pericial.

5. Questões objetivas

1	<p>O sangue é um tecido conjuntivo líquido cujos componentes circulam por vasos sanguíneos de animais de sistema circulatório fechado. Sobre o sangue é correto afirmar que:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Os eritrócitos, também chamados de glóbulos brancos, são tipos celulares que compõem o sistema imune.b. Hemácias humanas não apresentam material genético nuclear.c. Os leucócitos são os tipos celulares mais abundantes no sangue humano.d. Os glóbulos vermelhos de animais são sempre anucleados.e. O plasma sanguíneo é composto majoritariamente de H_2O_2.
2	<p>Dentre os vestígios que mais frequentemente são encontrados em locais de crime, o sangue é o mais emblemático. Considerando a avaliação de manchas hematóides encontradas em locais de crime, podemos dizer que:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Toda e qualquer mancha hematóide cujo resultado no teste de orientação baseado no Reativo de Kastle-Meyer for positivo deve ser considerada sangue humano.b. Apesar da atenção dada por filmes e seriados policiais, o sangue presente em locais de crime não permite avaliações pericialmente importantes.c. A atividade de peroxidase de componentes do sangue foi a base dos primeiros testes forenses desenvolvidos para a identificação de manchas de sangue e são utilizados até mesmo nos dias de hoje.d. Sob luzes forenses de comprimentos de onda próximos à cor azul, manchas de sangue brilham de maneira semelhante a manchas de sêmen, sendo estes vestígios biológicos de difícil distinção por este método.e. Na presença de água oxigenada, a hemoglobina se decompõe em água e oxigênio gasoso.

3	<p>O reativo de Kastle-Meyer é utilizado em um teste presuntivo para sangue e foi descrito pela primeira vez em 1903. Neste, o indicador fenolftaleína é utilizado para detectar a possível presença de hemoglobina. Ele baseia-se na atividade de peroxidase da hemoglobina do sangue para catalisar a oxidação de fenolftaleína, que é visível como uma coloração rósea.</p> <p>Acerca do teste presuntivo baseado em fenolftaleína, avalie as afirmativas abaixo e assinale a alternativa que aponta apenas as corretas:</p> <ol style="list-style-type: none"> I. A fenolftaleína pode ser utilizada como um indicador de pH que, em soluções ácidas, apresenta coloração rósea. II. Durante a preparação do reativo de Kastle-Meyer, a uma solução alcalina é acrescentada a fenolftaleína que, na sequência, é reduzida por zinco em pó em brando aquecimento. III. Ao realizar o teste, à amostra é aplicado o reativo seguido de água oxigenada (ou qualquer outro peróxido) que, na presença de componentes do sangue, se decompõe em água e oxigênio, sendo este último responsável pela oxidação da fenolftaleína. IV. É considerado um teste de certeza, pois não apresenta falsos positivos <ol style="list-style-type: none"> a. apenas I. b. II e III. c. I e III. d. I, III e IV. e. I e IV.
4	<p>Sobre os resultados falsos positivos, assinale a alternativa incorreta:</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Substâncias capazes de decompor água oxigenada em água e oxigênio podem apresentar resultado positivo no teste de Kastle-Meyer. b. Luminol apresenta quimioluminescência na presença de água sanitária. c. Considerando que os testes imunocromatográficos são baseados na reação específica entre antígeno e anticorpo, é impossível a ocorrência de falso positivo quando utilizado para confirmação de sangue humano. d. Oxidando a fenolftaleína à fenolftaleína, amostras contendo mostarda podem resultar em coloração rósea no teste de Kastle-Meyer. e. Tanto o teste de Kastle-Meyer quanto o teste de Adler-Ascarelli (benzidina) apresentam falsos positivos possíveis.
5	<p>Testes confirmatórios para sangue humano consistem, em regra, de reações específicas envolvendo um anticorpo contra proteínas do sangue, como a hemoglobina humana. No que se refere aos testes imunocromatográficos, assinale a alternativa incorreta:</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Anticorpos monoclonais corados compõem a fase estacionária da zona de tratamento. b. A hemoglobina de gorila e de chimpanzé, por serem semelhantes à humana, podem apresentar resultado positivo, dependendo do fabricante do teste. c. Na membrana cromatográfica há uma zona de tratamento (T) e uma zona controle (C). d. Resultados positivos são representados por duas faixas: uma na zona T, outra na zona C. e. Tanto na área de aplicação, quanto na zona T há anticorpos contra a hemoglobina.

<p>6</p>	<p>Quanto à análise de padrões de mancha de sangue, avalie as afirmativas abaixo:</p> <ul style="list-style-type: none">I. Permite inferir sobre a dinâmica do fato delituoso.II. É também chamada de Hematologia Forense Reconstructora.III. Manchas de projeção podem ser de baixa, média ou alta velocidade.IV. Em manchas formadas por gotejamento isolado, é possível estimar o ângulo de impacto. <p>Marque a alternativa que indica as alternativas corretas:</p> <ul style="list-style-type: none">a. I e II.b. I, II e IV.c. I, II, III e IV.d. II e IV.e. III e IV.
<p>Observe a mancha representada abaixo e responda as questões 7, 8 e 9:</p> 	
<p>7</p>	<p>Acerca da formação desta mancha, podemos afirmar que:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Não permite qualquer inferência sobre a direcionalidade.b. Apresenta duas partes, chamadas de cabeça e escorrido.c. Não representa a morfologia de qualquer mancha de sangue possível.d. É o resultado de uma gota impactando contra uma superfície em ângulo inferior a 90°.e. Representa uma mancha formada por uma gota em queda livre e em trajetória a 90° em relação ao plano de anteparo.
<p>8</p>	<p>A mancha representada foi originada de uma gota cuja trajetória era orientada:</p> <ul style="list-style-type: none">a. De cima para baixo e da direita para a esquerda.b. De baixo para cima e de direita para a esquerda.c. De cima para baixo e da esquerda para a direita.d. De baixo para cima e da esquerda para a direita.e. Não é possível avaliar a orientação de formação da mancha.
<p>9</p>	<p>Sabendo que a cabeça é representada pela porção elíptica da mancha e que a divisão de sua largura (L) pelo comprimento (C) equivale ao seno do ângulo de impacto (senθ) entre o plano do anteparo e a trajetória que a gota seguia, marque a alternativa correta:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Se L=8,05mm e C=13,20mm, então $\text{sen}\theta=0,6888$.b. Se L=9,35mm e C=10,15mm, então $\text{sen}\theta=0,0212$.c. Se L=8,25mm e C=9,15mm, então $\text{sen}\theta=0,1432$.d. Se L=7,95mm e C=14,35mm, então $\text{sen}\theta=0,6540$.e. Se L=9,00mm e C=11,00mm, então $\text{sen}\theta=0,8182$.

10	<p>Sobre as manchas de sangue, assinale a alternativa incorreta:</p> <ol style="list-style-type: none">Quanto maior a energia do instrumento que deslocou o sangue, menor será as dimensões das menores manchas formadas.De maneira geral, em se tratando de gotejamento isolado originado a menos que 6m de altura, podemos afirmar que quanto maior a altura de queda, maior o diâmetro da mancha formada.O ângulo de impacto de gotejamentos ocorridos enquanto a pessoa lesionada corre é menor do que quando ela caminha.Certos conjuntos de manchas permitem apontar uma área de convergência no plano de anteparo e uma região de origem em três dimensões.Em manchas formadas pelo gotejamento cuja aceleração é exclusivamente gravitacional, a probabilidade de formação de gotas satélites ao redor da mancha é inversamente proporcional à altura de origem da gota.
11	<p>Questão da prova de concurso público para a carreira de Perito Criminal (área ciências biológicas) da Polícia Civil do Distrito Federal, 2016:</p> <p>Em uma cena de determinado crime, manchas de sangue são vestígios de grande importância para a elucidação do ocorrido no ambiente. Essas manchas podem estar diluídas, invisíveis a olho nu ou em superfícies escuras, sendo assim detectadas por meio da utilização de reagentes especiais. No que se refere aos testes utilizados em uma amostra de sangue, assinale a alternativa correta.</p> <ol style="list-style-type: none">A utilização de reagentes, na detecção de possíveis amostras de sangue em local de investigação, não causa degradação do DNA a longo prazo, estando essas amostras disponíveis a qualquer tempo para nova análise.O sangue exposto ao ambiente está sujeito a uma série de processos de degradação, porém na hemoglobina não ocorrem modificações, sendo possível a identificação do sangue.Os testes presuntivos, também denominados testes de orientação, utilizados para a detecção de sangue, têm como princípio uma reação de oxidação de determinado indicador por um agente oxidante, catalisada na presença de sangue.O luminol (3-aminoftalidrazida) é um teste de baixa sensibilidade, e não é recomendado o respectivo uso em superfícies não absorventes e em tecido de algodão.Para um teste de triagem, dos testes presuntivos de cor a benzidina é o reagente que apresenta menor sensibilidade, devendo ser evitada.