

POSSÍVEIS INTERFERENTES DO LUMINOL EM ANÁLISE DE MANCHAS DE SANGUE LATENTE

ANDERSON CRIZEL PINHEIRO HOLZ¹; CARLA DE ANDRADE HARTWIG²;
WILSON CUNICO³

¹Universidade Federal de Pelotas – andersoncpholz@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carlahartwig@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – wjcunico@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Ao chegar em um local de crime, o perito criminal é apresentado a um cenário desafiador, devendo identificar e coletar todos os vestígios que pressuponha estarem relacionados ao fato delituoso. Em se tratando de vestígios biológicos, esse desafio, por vezes, é facilitado pela presença de elementos facilmente distinguíveis a olho nu, sob luz convencional (vestígios ostensivos), tais como sangue visível, sêmen, fezes, vômito, marcas de mordida recente com saliva, fios de cabelo e pelos pubianos. Porém, há situações em que os vestígios biológicos não são facilmente perceptíveis a olho nu (vestígios latentes), e necessitam ser revelados por algum tipo de luz forense, reagente químico ou técnica específica para que sejam identificados, armazenados e transportados corretamente para análise. Este é o caso, por exemplo, do uso do reagente luminol em manchas de sangue latente (Velho *et al.*, 2013).

O luminol é um sólido cristalino de cor branca-amarelada (Barni *et al.*, 2007) que é utilizado na investigação de vestígios de sangue. Este produto químico é capaz de evidenciar vestígios sanguíneos até então invisíveis a olho nu, sendo, portanto, um grande aliado dos peritos criminais para revelar cenas ocultas de um crime. Através de uma reação quimioluminescente, os íons de ferro presentes na hemoglobina do sangue catalisam uma reação química de conversão do luminol (3-aminofthalhidrazida) em um derivado (3-aminofthalato), provocando a emissão de intensa radiação luminosa com cor azul-fluorescente, de maior visibilidade em ambiente escuro. Este procedimento é muito importante porque, a partir do estudo das manchas de sangue, torna-se possível sugerir uma dinâmica sobre o que aconteceu no local examinado e, em alguns casos, detectar traços de DNA que permitem o reconhecimento tanto das vítimas quanto dos demais envolvidos no caso em questão (Martinis *et al.*, 2015).

Assim, o uso do luminol constitui um teste presuntivo e extremamente sensível, que detecta traços de sangue, superiores a 1ppb (uma parte por bilhão ou o equivalente a um gota de sangue em 999 milhões de gotas de água), mesmo em locais muito lisos, como azulejos, pisos cerâmicos ou de madeira, que tenham sido lavados. Estas características tornam a análise pelo luminol recomendada para vestígios com manchas de difícil visualização e em superfícies de áreas suspeitas de terem sido lavadas no local do crime. O exame pode ser executado mesmo depois de passar um longo período da ocorrência do fato. E é importante salientar que o reagente não interfere nas análises de DNA que possam ser realizadas posteriormente (Bruni *et al.*, 2019; Martinis *et al.*, 2015).

Entretanto, apesar de muito sensível, o teste do luminol não é específico para sangue, visto que reage com outras substâncias gerando resultados falso-positivos, sendo elas: extratos de vegetais que contenham peroxidase em suas

células e que possam catalisar a oxidação na presença de peróxido de hidrogênio. Reage também com agentes químicos oxidantes e substâncias químicas, que causam oxidação, presentes em certos produtos químicos de limpeza (alvejantes a base de cloro). Os metais semelhantes ao ferro, como magnésio, cobalto *etc.*, também levam a resultados falso-positivos. Porém a reação de emissão de luz tem uma menor duração e esta luz apresenta diferente tonalidade. Este tipo de reação é mais comum com os produtos branqueadores a base de cloro. Ademais, é importante destacar que sangue de origem não humana, também provoca reação positiva frente ao uso de luminol (Passagli, 2019).

Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão de alguns dos possíveis interferentes do teste do luminol em análise de manchas de sangue, em acordo com publicações recentes da literatura, as quais têm justificado o desenvolvimento de alternativas a estas limitações de uso do luminol.

2. METODOLOGIA

Para a elaboração de revisão de literatura deste estudo, foram utilizados livros impressos, livros digitais e artigos científicos encontrados nas seguintes bases de dados: *PubMed*, *Google Acadêmico* e *Science Direct*, publicados no período de 2000 a 2024. As buscas foram realizadas nos idiomas português e inglês.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado obtido com as diversas formulações de luminol depende da sensibilidade do reagente formulado (maior ou menor concentração do princípio ativo, e dos catalisadores) e de cada fornecedor que tem sua fórmula patenteada. Ainda, existe uma dependência relacionada ao suporte onde o sangue foi depositado e o tipo de superfície. As superfícies lisas (não porosas) são mais fáceis de serem lavadas e, portanto, se for realizada uma limpeza completa, a chance de resultado negativo poderá ser maior. Um fator relevante também é tomar cuidado com a aplicação em superfícies verticais. Nelas deve-se usar reagentes mais concentrados e ter um cuidado especial com os borrifadores usados, uma vez que grandes gotículas podem lavar todo o material e levar a um resultado negativo por diluição. Outro cuidado a ser tomado é com as superfícies porosas, pois quanto mais tempo decorrido e maior a umidade do ar, maior a penetração do sangue lavado na trama da superfície, e, portanto, a sensibilidade da reação poderá ser reduzida (Passagli *et al.*, 2019).

Nos estudos realizados por Manna e Montpetit (2000) e James, Kish e Sutton (2005), os autores observaram que manchas de sangue antigas produzem quimioluminescência mais intensa e duradoura do que manchas frescas. Já em 2001, Quickenden e Cooper descreveram como o teste de luminol é afetado pelo pré-aquecimento do sangue testado, através de uma série de ensaios para imitar os ciclos de temperatura aos quais o sangue é exposto em, por exemplo, veículos. Ainda neste mesmo estudo, os autores perceberam que quando a solução de hemoglobina foi pré-aquecida no intervalo determinado, a quimioluminescência medida aumentou consideravelmente com o aumento da temperatura. Corroborando com a pesquisa de Quickenden e Cooper (2001), em 2006, Nilsson relatou que muitos fatores influenciam o potencial de detectar

sangue e que dentro de limitações razoáveis, a mancha de sangue envelhece e o pré-aquecimento produz quimioluminescência mais forte e duradoura.

Em 2016, Cavalcanti e Barros descreveram que bebidas e alimentos que são fontes naturais de antioxidantes, quando despejados sobre manchas de sangue, podem atuar como interferentes, alterando a análise dos resultados com luminol. No caso de chás, a totalidade dos estudos encontrados na literatura concluiu que a alta capacidade antioxidante dos chás verde e preto pode minimizar a emissão de luz quimioluminescente do luminol, quando analisado sobre manchas de sangue, podendo gerar resultados falso-negativos.

Ainda em 2016, Miranda *et al.* realizaram um relato de caso sobre um crime onde houve o entintamento de uma parede e concluíram que a tinta esmaltada e a tinta spray podem dar resultado falso-positivo, e que o luminol não é capaz de penetrar a tinta e detectar o sangue que está sob a mesma. O que sugere que a detecção do vestígio latente pelo uso do luminol ocorre somente quando a camada de tinta que recobre a mancha de sangue é retirada.

Em 2017, Oldfield *et al.* indicaram que o percarbonato de sódio é mais eficaz na remoção de vestígios significativos de sangue quando comparado à lavagem de manchas de sangue apenas com detergente, que se mostrou ineficaz na remoção de sangue detectável, e que esta eficácia pode ser aprimorada quando outras condições, como temperaturas de lavagem, tempo de secagem e elementos ambientais, são incorporadas aos procedimentos de limpeza utilizados.

Em 2019, Passagli *et al.* investigou a existência de resultados falso-positivos quando se faz o uso do reagente luminol frente a produtos domiciliares mais usados em residências como agentes de limpeza, alvejantes, inseticidas, tintas, vernizes, alimentos diversos e substâncias químicas. Foi obtido resultado positivo para todas as tintas, vernizes e produtos a base de cloro testados, o que corrobora com os estudos da literatura. Com exceção dos produtos a base de cloro, todos os demais produtos de limpeza testados foram negativos. Os produtos mais modernos de limpeza já não contêm derivados de cloro, com isso, raramente são capazes de interferir com vestígios de sangue nos dias de hoje. Entre os produtos e substâncias químicas analisados, os falso-positivos estão ligados a íons metálicos, tais como manganês, cobre e ferro. Nos alimentos testados a presença de fibras parece ser a causa determinante para resultados falso-positivos com o luminol. É importante destacar que a reação pode variar de branco a azul e às vezes pode ser de longa sua duração, como a verificada na presença de sangue.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que, ainda que o luminol apresente uma elevada sensibilidade nas análises de manchas de sangue, ele pode sofrer certas interferências, sejam elas ambientais, físicas ou químicas, que podem acabar comprometendo o resultado da análise. Dessa forma, novos estudos devem ser desenvolvidos para aprimorar ainda mais este teste que é muito usado pelos profissionais da perícia criminal, assim como, justifica-se a busca por reagentes alternativos que possam promover a revelação de vestígios latentes de sangue, com menores interferências.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNI, F. *et al.* *Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection.* **Talanta.** v.72, n.3, p.896-913, 2007;

BRUNI, A. T. *et al.* **Fundamentos de Química Forense: uma Análise Prática da Química que Soluciona Crimes.** Campinas, SP: Millennium Editora, 2 ed., 2019;

CAVALCANTI, D.R.; BARROS, R.M. Escondendo Manchas de Sangue em Locais de Crime: Análise da Ação Antioxidante dos Chás Verde e Preto Sobre o Luminol. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics.** V.6, n.1, p.47-60, 2016;

JAMES, S.H.; KISH, P.E.; SUTTON, T.P. **Principle of bloodstain pattern analysis: theory and practice.** Flórida: CRC press. 1 ed. 2005;

MANNA, A. D.; MONTPETIT, S. *A novel approach to obtaining reliable PCR results from luminol treated bloodstains.* **Journal Forensic Sciences.**v.45, n.4, p.886-90, 2000;

MARTINIS, B. S. *et al.* **Química Forense Experimental.** São Paulo: Cengage Learning, 2015;

MIRANDA, G.E. *et al.* Detecção de manchas de sangue pelo luminol onde houve entintamento das paredes – estudo de caso. **Revista Brasileira de Criminalística.** v.5, n.1, p.14-17, 2016;

Nilsson, A. **The forensic luminol test for blood: unwanted interference and the effect on subsequent analysis.** *Linköping University, the Swedish National Laboratory of Forensic Science (SKL):* 2006;

OLDFIELD, C. *et al.* *The efficacy of luminol in detecting bloodstains that have been washed with sodium percarbonate and exposed to environmental conditions.* **Australian Journal of Forensic Sciences.** v.50, n.4, p.345-354, 2017;

PASSAGLI, M. Vestígios e Evidências Biológicas de Interesse Forense na Investigação da Cena do Crime. In: STUMVOLL, V. P. (org.). **Criminalística.** Campinas, SP: Millennium Editora, 7 ed., 2019. Cap. 5, p.81-151;

QUICKENDEN, T.I.; COOPER, P.D. *Increasing the specificity of the forensic luminol test for blood.* **Luminescence.** v.16. n.3, p.251-253, 2001;

VELHO, J. A. *et al.* **Locais de Crime: dos Vestígios à Dinâmica Criminosa.** Campinas, SP: Millennium Editora, 1 ed., 2013.