

## **APLICABILIDADE DO TESTE DE TEICHMANN EM VESTÍGIOS HEMÁTICOS SECOS: IMPACTOS DA SUPERFÍCIE, VOLUME E TEMPO**

AMANDA BATISTA AGUIAR<sup>1</sup>; MELLISE DOS SANTOS FERREIRA<sup>2</sup>; BRUNA ORLANDO CORRÊA<sup>3</sup>; LUÃ TIMM SAN MARTIN<sup>4</sup>; DIOGO LA ROSA NOVO<sup>5</sup>; CARLA DE ANDRADE HARTWIG<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense, UFPel – [b.amandaaguiar@gmail.com](mailto:b.amandaaguiar@gmail.com)

<sup>2</sup>Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense, UFPel – [melliseferreira@gmail.com](mailto:melliseferreira@gmail.com)

<sup>3</sup>Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense, UFPel – [bruna.orlandoc@hotmail.com](mailto:bruna.orlandoc@hotmail.com)

<sup>4</sup>Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense, UFPel – [luatimm.quim@gmail.com](mailto:luatimm.quim@gmail.com)

<sup>5</sup>Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense, UFPel – [diogo.la.rosa@hotmail.com](mailto:diogo.la.rosa@hotmail.com)

<sup>6</sup>Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense, UFPel – [carlahartwig@yahoo.com.br](mailto:carlahartwig@yahoo.com.br)

### **1. INTRODUÇÃO**

Segundo o Princípio da Troca de Locard, não é possível entrar em um local sem o alterar, mesmo que de modo involuntário. Logo, evidências físicas são sempre encontradas em locais de crimes. O sangue é um dos vestígios biológicos mais frequentemente encontrados em cenas de crimes violentos. Sua presença auxilia a reconstruir eventos, identificar vítimas e conectar suspeitos ao local do delito (James; Kish; Sutton, 2005).

Todavia, a identificação e preservação desses vestígios se torna um desafio à medida que o tempo passa e conforme o tipo de superfície sobre a qual está depositado. Além disso, segundo Saferstein (2014), uma boa conservação e isolamento desse material é crucial para uma investigação. Caso contrário, podem comprometer a eficiência dos testes presuntivos (luminol e fenolftaleína), que embora sensíveis, não confirmam a presença de sangue (Dias Filho *et al.*, 2021).

Com isso, se faz necessária a aplicação de testes confirmatórios, como o teste de Teichmann, um método qualitativo clássico que não reage com outras substâncias, ou seja, mais específico. Baseia-se na reação entre o grupo heme da hemoglobina com o reagente de Teichmann (ácido acético glacial, cloreto de potássio, brometo de potássio, iodeto de potássio e água) formando cristais de hemina observáveis com microscópio. Desenvolvido por Ludwig Teichmann em 1853, segue sendo usado atualmente como ferramenta complementar em contexto de poucos recursos devido ao seu baixo custo, simplicidade e capacidade de atuar em manchas de sangue antigas (Sheehan; Kobilinsky, 1984).

A morfologia dos cristais marrons escuros formados durante o teste é uma característica determinante para a sua identificação positiva para sangue. Eles costumam apresentar forma rômbica, agulhado e/ou, também, em agrupamentos semelhantes à forma de uma “estrela”. Tais aspectos são indicativos da presença do grupo heme, mesmo em amostras envelhecidas (Dias Filho *et al.*, 2021).

O estudo recente de Abid, Rezakola e Hanura (2024) demonstra que mesmo após a exposição de manchas de sangue a agentes degradantes como detergentes domésticos, os cristais formados no teste apresentaram as mesmas características morfológicas, confirmando a resistência estrutural do padrão cristalino face a condições adversas. A forma, o tamanho e a organização dos cristais podem ser influenciados por uma combinação de variáveis ambientais e experimentais (tempo de exposição, o volume inicial de sangue coletado, tipo e

porosidade da superfície de deposição, umidade, temperatura ambiente, entre outros) (Abid; Rezakola; Hanura, 2024).

Além da identificação, ao analisar os cristais, é possível também visualizar interferências sobre o estado de preservação da amostra, ou seja, a integridade da hemoglobina e o grau de oxidação do ferro. Inicialmente presente na forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ), ele é oxidado para a forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) durante o teste, reagindo com os haletos do reagente, em meio ácido e sob aquecimento, resultando nos cristais (Sheehan; Kobilinsky, 1984).

Assim, o presente trabalho visou analisar a aplicabilidade do teste de Teichmann para manchas de sangue secas, com volumes variados depositados em diferentes superfícies (madeira e piso laminado). Além disso, buscou-se observar os efeitos do tempo sobre as características da mancha, verificando quais condições favorecem ou dificultam a formação e visualização dos cristais.

## 2. METODOLOGIA

O Grupo de Pesquisa em Química Analítica e Forense (GPQAF) realiza pesquisas utilizando o teste de Teichmann com o intuito de analisar sua aplicabilidade em diferentes condições experimentais. Para tal, foram utilizadas amostras hemáticas de origem ovina (sangue de carneiro desfibrinado) como matriz biológica. Esse sangue foi depositado, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, em madeira (material sorvente) e piso laminado (não absorvente) com diferentes volumes: 1 e 3 gotas de sangue. Essas amostras foram deixadas para secar naturalmente em temperatura ambiente (8 °C a 22 °C).

Para analisar os efeitos do tempo sobre as amostras, foram definidos diferentes intervalos de tempo para coleta e análise. A primeira observação ocorreu poucas horas após a deposição do sangue, com objetivo de estabelecer um parâmetro comparativo com as amostras envelhecidas. As demais análises foram realizadas em intervalos semanais, totalizando, até o momento, sete semanas de monitoramento contínuo.

A coleta do material foi realizada como preconizado no Procedimento Operacional Padrão (POP) da perícia criminal brasileira, respeitando as características de cada superfície. Para a superfície sorvente, a coleta foi realizada usando hastes flexíveis umedecidas com água destilada. Já para a não absorvente, foi feita a raspagem do material seco com uma lâmina (Brasil, 2013).

As amostras coletadas foram transferidas para tubos de ensaio e diluídas com água destilada. Para as amostras contendo 1 gota de sangue, foram adicionadas 10 gotas de água destilada, enquanto para as amostras contendo 3 gotas, foram adicionadas 20 gotas de água. Em seguida, uma alíquota da solução foi depositada sobre uma lâmina de microscópio e levada à secagem branda em uma chapa de aquecimento (50 °C), para evitar fervura ou aquecimento excessivo.

Após a secagem completa da amostra, adicionou-se a lamínula e, por capilaridade, foi introduzido o reagente de Teichmann até a interface entre a lâmina e a lamínula estar totalmente preenchida. As lâminas foram mantidas sob aquecimento por, em média, vinte minutos para que a cristalização ocorresse.

Por fim, as lâminas foram observadas com auxílio de um microscópio óptico Olympus Cx 41 (Olympus Corporation, Japão) com objetiva de 40x e ocular de 10x (sendo um aumento de 400x), para verificar a formação e a morfologia dos cristais de hemina formados durante o processo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos, demonstram a sensibilidade do teste de Teichmann para a formação dos cristais de hemina, mesmo em amostras envelhecidas. A análise microscópica revelou cristais marrom escuro com morfologia específica (rômnicos, agulhados e/ou em agrupamentos cristalinos), conforme descrito na literatura (Dias Filho; Francez, 2022).

Nas amostras aplicadas sobre piso laminado, os cristais de hemina formaram-se, na maioria dos testes semanais, de forma isolada e com dimensões consideráveis, independentemente do volume aplicado (1 ou 3 gotas). Por outro lado, nas amostras depositadas sobre madeira, observou-se predominantemente a formação de cristais menores, geralmente dispostos em agrupamentos. Esse padrão morfológico se manteve consistente ao longo das semanas de análise, embora os cristais agulhados também estivessem presentes, mas em menor quantidade.

Entretanto, em alguns casos, componentes naturais da madeira migraram para a lâmina durante a coleta. Tal interferência não comprometeu a formação nem a visualização dos cristais ao microscópio, o que evidencia a robustez do método mesmo diante de potenciais interferentes de origem orgânica. Cabe ressaltar que, a partir das características observadas no procedimento de coleta, como fragmentos do material aderidos à amostra, é possível obter indícios sobre a superfície de origem de uma mancha de sangue seco, auxiliando na reconstituição de cenas e na interpretação do contexto forense.

Um dado relevante observado foi a variação na quantidade de cristais identificados em função do volume de sangue utilizado. Curiosamente, algumas amostras contendo apenas 1 gota apresentaram maior número de cristais do que aquelas com 3. Uma hipótese para esse comportamento está na dinâmica de secagem: amostras de menor volume tendem a secar mais rapidamente e de forma mais homogênea, o que favorece a atuação do reagente. Em contrapartida, volumes maiores mantêm maior umidade residual, o que pode dificultar a evaporação sob a lâminula, prolongando a secagem e interferindo negativamente no processo e cristalizando de maneira indesejada.

Durante o período de exposição das amostras à temperatura ambiente, observou-se, com o tempo, sinais de ressecamento excessivo, levando à fragilidade e quebra da mancha original. Isso resultou em fragmentações, dificultando a coleta completa do material biológico depositado. A secagem natural, embora necessária para simular condições reais de vestígios, contribuiu para perdas parciais de amostra.

Esses resultados indicam que fatores como a natureza da superfície, o clima da região, a umidade relativa do ar, exposição solar, o volume e o tempo de secagem da mancha influenciam diretamente na morfologia e abundância dos cristais de hemina. Ainda assim, o método de Teichmann mostrou-se sensível, confiável e eficaz na identificação de sangue seco, mesmo após semanas de exposição às condições ambientais.

### 4. CONCLUSÕES

Este estudo contribui para a consolidação do teste de Teichmann como uma ferramenta confirmatória eficiente para detecção de vestígios hemáticos secos, mesmo em condições adversas e sobre superfícies de naturezas distintas, incluindo materiais de difícil coleta. A principal inovação está na aplicação

sistemática do método em amostras degradadas ao longo do tempo, com controle de variáveis como volume de sangue, tipo de substrato e intervalo de análise, evidenciando sua robustez mesmo em volumes mínimos (1 gota). Além disso, o uso de sangue ovino desfibrinado como matriz biológica apresenta-se como uma alternativa segura e ética para simulações forenses.

Por ser um método de baixo custo, que dispensa equipamentos sofisticados e ainda oferece alto valor probatório, o teste de Teichmann reforça seu potencial para padronização em análises laboratoriais e aplicações periciais, especialmente em contextos com recursos limitados. Ademais, apresenta perspectivas para o desenvolvimento de abordagens quantitativas e para a diferenciação entre tipos de sangue, incluindo amostras com alterações hematológicas, como casos de anemia, nos quais a menor concentração de ferro na hemoglobina pode influenciar na quantidade e no padrão de formação dos cristais.

Desse modo, futuramente, pretende-se padronizar um método para quantificação dos cristais, associando esses dados à morfologia, bem como expandir os testes para outras superfícies e aumentar o tempo de exposição, visando avaliar o limite de detecção do método.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**ABID, Istiana Firqah; REZAKOLA, Erik; HANURA, Imam Yusuf.** Teichmann test: assessment of hemoglobin crystals on blood spots exposed to powder detergent. **Jurnal Biosains Pascasarjana**, v. 26, n. 1, p. 23–27, 2024.

**BRASIL. Ministério da Justiça. Secretaria Nacional de Segurança Pública.** Procedimento Operacional Padrão: Perícia Criminal. Brasília: MJ, 2013.

**DIAS FILHO, C.R. et al. Hematologia forense: da identificação à análise de manchas de sangue.** São Paulo; Millennium Editora, 2021.

**DIAS FILHO, Claudemir Rodrigues; FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa (orgs.). Introdução à biologia forense.** 3. ed. Campinas, SP: Millennium Editora, 2022.

**JAMES, S. H.; KISH, P. E.; SUTTON, T. P. Principles of bloodstain pattern analysis: theory and practice.** Boca Raton: CRC Press, 2005.

**SAFERSTEIN, R. Criminalistics: an introduction to forensic science.** 11 ed. Pearson, 2014.

**SHEEHAN, F. X.; KOBILINSKY, L.** Human Blood Identification: a forensic science approach. **Journal of Chemical Education**, v. 6 n.6, p. 541-546, 1984.