



## **Comportamento do Reagente Bluestar® em Manchas de Sangue Frente a Diferentes Tempos, Superfícies e Lavagem**

### **Behavior of Bluestar Reagent in Blood Stain before Different Times, Surfaces and Washing**

Cristina Saft Matos Vieira<sup>1\*</sup>, Christian Zamberlan Angheben<sup>2</sup>, Fabio Delwing<sup>1</sup>,  
Mário Marques Fernandes<sup>1</sup>, Rachel Ribeiro Tinoco<sup>1</sup>, Rosane Pérez Baldasso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Odontologia Legal, Associação Brasileira de Odontologia Seção Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil*

<sup>2</sup> *Departamento de Medicina, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil*

\* Email: [tinasaft@hotmail.com](mailto:tinasaft@hotmail.com)

**Resumo:** Com o avanço da tecnologia e o crescente número de crimes, o perito odontologista tem atuado de forma a auxiliar na identificação humana. Cabe aos peritos, em locais de crime, a difícil tarefa de localizar, reconhecer e identificar vestígios biológicos ali existentes. O objetivo da pesquisa foi avaliar a quimiluminescência do reagente Bluestar®, verificando se há como identificar manchas de sangue em diferentes substratos e após diferentes períodos de tempo; além da viabilidade de identificação de vestígios de sangue em corpos de prova, após submetidos a lavagem com água e sabão. Quatro substratos diferentes foram utilizados: cerâmica, tecido de algodão, carpete e MDF (Medium-Density Fiberboard ou painel de fibras de madeira). Sobre cada um destes, 2 mL de sangue foram depositados. 12 substratos foram mantidos com a mancha de sangue visível e 12 foram lavados, sendo divididos em três períodos de tempo: 1 dia (T1), 7 dias (T2) e 30 dias (T3). Sobre cada corpo de prova o reagente Bluestar® foi borrifado. Todos os corpos de prova apresentam quimiluminescência após utilização do Bluestar®, em todos os tempos da pesquisa. Conclui-se que o Bluestar® é efetivo na identificação de manchas de sangue visíveis e latentes, mesmo após 30 dias de sua remoção.

**Palavras-chave:** Manchas de sangue; Reagentes; Odontologia legal; DNA; Luminescência.

**Abstract:** With the advancement of technology and the increasing number of crimes, forensic dentist expert has performed in order to improve human identification. It is up to the experts in crime scenes the difficult tasks of locating, recognizing and identifying therein biological traces. The objective of the research was to evaluate the chemiluminescence of Bluestar® reagent, checking for how to identify bloodstains on different substrates and after different periods of time; besides that, it was verified the viability of identifying traces of blood in bodies of proof after subjecting them to washing with soap and water. Four different substrates were used: ceramic, cotton fabric, carpet and Medium-Density Fiberboard (MDF). On each of these, 2 mL of blood were deposited. 12 substrates were kept with visible blood stain and 12 were washed, divided into three time periods: 1 day (T1), 7 days (T2) and 30 days (T3). On each item the Bluestar® reagent was sprayed. All specimens showed chemiluminescence after using Bluestar®, at any time of the research. We conclude that the Bluestar® is effective in identifying visible and latent blood stains, even after 30 days of removal.

**Keywords:** Blood stains; Reagent; Forensic dentistry; DNA; Luminescence.

## 1. Introdução

A Odontologia Legal tem papel importante nas ciências forenses, trabalhando não só com as áreas da Odontologia, mas também com a Biologia, Química, Física e Direito, dentre outras<sup>1,2</sup>. Com o avanço da tecnologia e o crescente número de crimes, muitas vezes sem solução, e de desastres em massa, o perito odontologista tem atuado de forma a auxiliar na identificação humana. Cabe aos peritos, em locais de crime, a difícil tarefa de localizar, reconhecer e identificar vestígios biológicos ali existentes<sup>3</sup>.

Existem três métodos primários de identificação humana, os quais são preconizados pela Interpol: análise dactiloscópica, análise odontolegal e análise do DNA (ácido desoxirribonucleico). Quando não há possibilidade de identificação pela impressão digital ou dentes, a análise de DNA será realizada<sup>1</sup>. O DNA é utilizado pelos peritos para a investigação criminal, extraído de amostras de sangue, esfregaços bucais, saliva, osso, dentes e outros materiais biológicos, sendo encontrado nos cromossomos do núcleo (DNA genômico) e nas mitocôndrias (DNA mitocondrial)<sup>1,2</sup>. Os peritos de cena de crime têm a difícil tarefa de selecionar o material biológico ali existente para posterior análise do DNA e consequente identificação da vítima e ou suspeito<sup>3</sup>.

Segundo Almeida et al. (2010)<sup>4</sup>, a detecção de sangue em cena de crime, em roupas dos suspeitos ou vítimas, ou em objetos ou automóveis apreendidos, constituem a maior parte da evidência física na investigação criminal, muitas vezes

sendo decisivo para a elucidação do crime. Assim, a identificação de manchas de sangue em locais de crime é de suma importância para auxiliar o perito na coleta de dados, podendo ser decisiva para a identificação de um suspeito ou vítima. Dentre os produtos utilizados para identificação dessas manchas, reagentes químicos como o luminol, Hemascein<sup>®</sup>, e Bluestar<sup>®</sup>, são descritos na literatura<sup>3,5-9</sup>.

Estudos foram realizados utilizando os reagentes químicos luminol, Bluestar<sup>®</sup> e Hemascein<sup>®</sup> na detecção de manchas de sangue<sup>3,5,9</sup>. Diversos substratos foram utilizados nas pesquisas, demonstrando fluorescência com o reagente Hemascein<sup>®</sup> e quimiluminescência com o Bluestar<sup>®</sup> e o luminol.

Em 2002, Ponce et al. (2002)<sup>10</sup> analisaram a sensibilidade do luminol para identificar manchas de sangue que haviam sido lavadas. Os resultados mostraram que o luminol foi muito eficaz na identificação de manchas de sangue que haviam sido lavadas até 10 vezes. Além disso, o DNA pôde ser extraído nas amostras que foram lavadas até três vezes. Alguns autores comprovam que os reagentes químicos para sangue não visível, não interferem na extração e posterior análise de DNA da mancha<sup>1,10-12</sup>.

O Bluestar<sup>®</sup> oferece várias vantagens sobre uma solução clássica de luminol. A intensidade da luminescência é mais elevada<sup>3,5,9,13</sup>, o produto é mais estável, podendo ser utilizado após 30 dias da preparação<sup>14</sup>.

O objetivo deste trabalho é avaliar quimiluminescência do reagente Bluestar<sup>®</sup>, verificando se há como identificar manchas de sangue, em diferentes substratos, e após diferentes períodos de tempo; além da viabilidade de identificação de vestígios de sangue em corpos de prova após submetidos à lavagem com água e sabão.

## **2. Metodologia**

### **2.1. Corpos de Prova**

Para a pesquisa, 48 mL de sangue foram coletados do doador com duas seringas descartáveis de 20mL e uma seringa de 10mL. O sangue foi imediatamente dispensado sobre os corpos de prova devidamente identificados em relação ao tipo de substrato, se sofreria ou não lavagem e ao tempo decorrido desde a aplicação do sangue. Em cada substrato foram depositados 2 mL de sangue.

Ao total, foram 24 corpos de prova, sendo que 12 foram lavados à mão, com uso de equipamentos de proteção individual (EPI) (luvas descartáveis e óculos de

proteção), com água, sabão em pó (Unilever Brasil, São Paulo) e escova de limpeza. Cada corpo de prova foi lavado por 5 minutos com a escova.

Os corpos de prova utilizados foram: tecido (algodão), MDF (Medium-Density Fiberboard ou painel de fibras de madeira), carpete e cerâmica (piso), todos medindo 20x20 cm. O reagente químico Bluestar® foi utilizado sobre os corpos para posterior visualização em ambiente escuro. Os corpos de prova foram mantidos em ambiente fechado, sem ventilação e pouca iluminação.

## **2.2. Coleta de Dados**

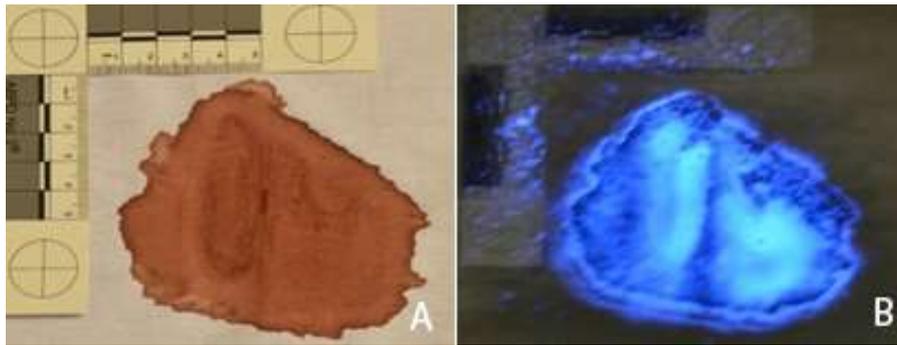
O período de tempo avaliado consistia em intervalos de 01 dia (T1), 07 dias (T2) e 30 dias (T3). Assim, decorrido o tempo necessário para o primeiro teste (T1), o reagente químico Bluestar® foi aplicado sobre os primeiros 8 corpos de prova conforme orientação do fabricante, em ambiente parcialmente escuro. Da mesma forma procedeu-se em T2 e T3. Os grupos foram divididos de acordo com o tipo de material: MDF, carpete, cerâmica e tecido.

Sobre cada corpo de prova, o reagente Bluestar® foi borrifado cinco vezes. Neste momento foi acionado um cronômetro com a intenção de verificar por quanto tempo era possível verificar a quimiluminescência, sendo que algumas fotografias foram realizadas com câmera Nikon D3200 com lente 18-55mm, com intervalo de 30 segundos, e outras com aparelho celular Iphone 6 (Apple, Cupertino), em ambiente com pouca iluminação.

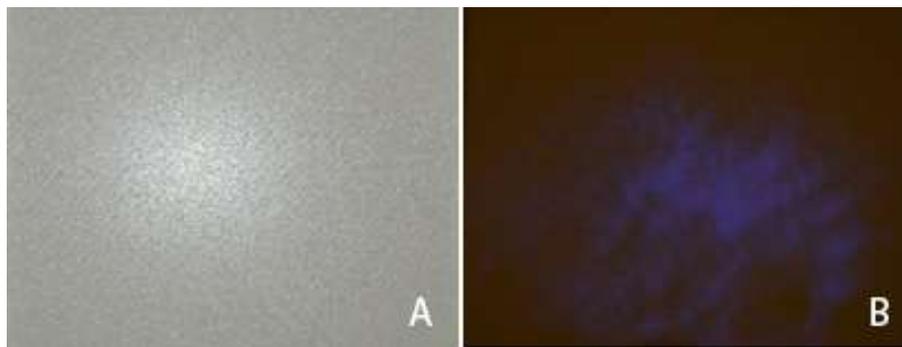
A pesquisa foi submetida à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e aprovado pelo protocolo de número 50264215.0.0000.5220.

## **3. Resultados**

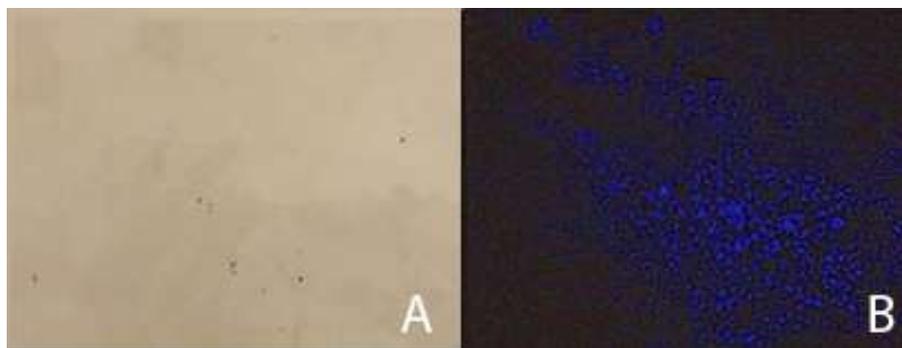
Após aplicação do reagente Bluestar®, a quimiluminescência foi evidente em todos os corpos de prova, como se vê em T1 (Figura 1), T2 (Figura 2) e T3 (Figuras 3 e 4).



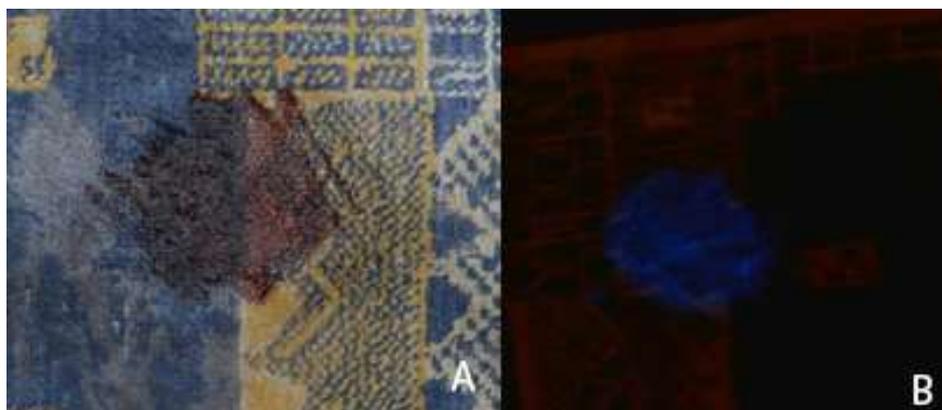
**Figura 1.** T1 Tecido: mancha de sangue (A) e após aplicação do reagente (B).



**Figura 2.** T2 MDF: mancha de sangue lavada (A) e após aplicação do reagente (B).



**Figura 3.** T3 Cerâmica: mancha de sangue lavada (A) e após aplicação do reagente (B).



**Figura 4.** T3 Carpete: mancha de sangue (A) e a após aplicação do reagente (B)

Em T1 e T3, todos os substratos tiveram quimiluminescência, variando a intensidade e o tempo, sendo que as bordas permaneceram mais tempo iluminadas nos substratos que não haviam sido lavados. Já em T2, houve maior tempo de quimiluminescência nas bordas, em todos os corpos que foram submetidos à lavagem (Quadro 1).

**Tabela 1.** Duração da quimiluminescência das amostras (em minutos) para os diferentes corpos de prova. \*substratos lavados com água e sabão

Grupo/ Tempo	T1 (1 dia)	T2 (7 dias)	T3 (30 dias)
MDF	1,56 min	3,15 min	5,13 min
MDF*	1,10 min	2,01 min	2,30 min
Carpete	1,33 min	1,53 min	1,05 min
Carpete*	28 seg	1,02 min	32 seg
Tecido	2 min	3,40 min	4,21 min
Tecido*	2,22 min	4,35 min	3,07 min
Cerâmica	1,47 min	3,40 min	5,03 min
Cerâmica*	1,06 min	1,20 min	3,13 min

#### 4. Discussão

Conforme verifica-se na literatura, o Bluestar<sup>®</sup> demonstrou ser eficaz na detecção e revelação de sangue, incluindo manchas de sangue latente, ou seja, que tenham sido retiradas mecanicamente ou lavadas<sup>11,13,15</sup>, o que foi evidenciado nos quatro substratos utilizados na pesquisa (lavados com água e sabão em pó).

Conforme visualizou-se no MDF, tecido, carpete e cerâmica nos períodos de tempo de 1 dia, 7 dias e 30 dias, a quimiluminescência do Bluestar<sup>®</sup> foi observada em ambiente não muito escuro, corroborando com outros estudos<sup>9,14</sup>.

Em T1, T2 e T3, o Bluestar<sup>®</sup> se manteve ativo na identificação dos vestígios, não apresentando resultado negativo sobre os substratos. Não houve alteração da intensidade na quimiluminescência em função do tempo das amostras, apenas observou-se alteração na duração da mesma, variando de acordo com o tipo de substrato. Resultado semelhante foi observado no trabalho de Webb<sup>13</sup>.

Observou-se aumento do tempo de quimiluminescência de T1 a T3 na maioria dos corpos de prova. Em T3, somente o carpete, carpete\* e tecido\* tiveram tempo inferior a T2. Todos os tempos em T1 foram inferiores a T2 e T3, com exceção do

carpete em relação a T3, com diferença de tempo de 28 segundos. Não há relatos na literatura explicando porque isso acontece. Sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas para elucidar essa diferença.

## 5. Conclusão

Conclui-se que o reagente Bluestar® foi eficaz na detecção de manchas de sangue em todos os materiais estudados (MDF, cerâmica, tecido de algodão e carpete), inclusive após a lavagem dos substratos com água, sabão em pó e escova, passados 30 dias da aplicação.

## 6. Referências Bibliográficas

1. Vieira G, Tavares C, Bouchardet F. Análise de DNA em Odontologia Forense. *Arqu bras odontol.* 2010;2(6):64-70
2. Silveira E. Odontologia Legal: a importância do DNA para as perícias e peritos. *Saúde, Ética e Justiça*, São Paulo. 2006;1(11):8-12. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2317-2770.v11i1-2p12-18>
3. Bilous P, et al. Detecting Burnt Bloodstain Samples with Light-Emitting Blood Enhancement Reagents. *American Academy of Forensic Sciences*,. 2010;62nd Annual Scientific Meeting,.
4. Almeida JP, Gless N, Bonorino C. Effect of presumptive tests reagents on human blood confirmatory tests and DNA analysis using real time polymerase chain reaction. *Forensic Sci Int.* 2010:58-61.
5. Seashols SJ, Cross HD, Shrader DL, Rief A. A comparison of chemical enhancements for the detection of latent blood. *Journal of forensic sciences.* 2013;58(1):130-3. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02259.x>
6. Patel G, Hopwood A. An evaluation of luminol formulations and their effect on DNA profiling. *International journal of legal medicine.* 2013;127(4):723-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00414-012-0800-9>
7. Bittencourt EAA, Vieira JAS, Angeramis NG, da Silva CE, R hrcd, Iwamura ESM. The analysis of biological samples from crime scene for a future human DNA profile confrontation. Effects of presumptive test reagents on the ability to obtain STR profiles for human identification. *Forensic Sci Int Genet.* 2009;2:194-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2009.08.057>
8. Tobe SS, Watson N, Daeid NN. Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular-weight DNA. *Journal of forensic sciences.* 2007;52(1):102-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00324.x>

9. Dilbeck L. Use of Bluestar Forensic in Lieu of Luminol at Crime Scenes. *Journal of Forensic Identification*. 2006;5(56):706-13.
10. Ponce AC, Segui MA, Feucht MM, Pascual FAV. Revelado de manchas latentes: efectividad del luminol y evaluación de su efecto sobre el estudio del DNA. *Cuadernos de Medicina Forense* 2002;28:33 a 6.
11. Barbaro A, Cormaci P, Teatino A, Barbaro A. Validation of forensic DNA analysis from bloodstains treated by presumptive test reagents. *International Congress Series*. 2004:631-3. [Http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5131\(03\)01539-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5131(03)01539-5)
12. Jakovich C. STR Analysis Following Latent Blood Detection by Luminol, Fluorescein, and bluestar. *Journal of Forensic Identification*. 2007:193-8.
13. Webb SK. Luminol vs Bluestar: A Comparison study of Latent Blood Reagents. Saint Louis Metropolitan Police Department.2002
14. Department FD. The effect of the bluestar™ blood reagent on DNA typing. Gendarmerie Nationale Criminal, Research institute, Biology department. 2001
15. Candido I. A importância da pesquisa de sangue humano nas amostras forenses. *Revista Policientífica*. 2011;10:21-5.