

## AVANÇOS NAS PRÁTICAS ANALÍTICAS DA HEMATOLOGIA FORENSE IDENTIFICADORA EM LOCAIS DE CRIME

### AVANCES EN LAS PRÁCTICAS ANALÍTICAS DE LA HEMATOLOGÍA FORENSE IDENTIFICADORA EN ESCENAS DEL CRIME

#### ADVANCES IN ANALYTICAL PRACTICES OF IDENTIFYING FORENSIC HEMATOLOGY AT CRIME SCENES

Jennefer Carneiro Moreira<sup>1</sup>  
Gabriel de Oliveira Rezende<sup>2</sup>

**RESUMO:** A hematologia forense é crucial na elucidação de crimes, mas métodos tradicionais apresentam limitações severas, como falsos positivos e inespecificidade para sangue humano. Este estudo analisou as ferramentas metodológicas da hematologia forense identificadora em aperfeiçoamento, investigando avanços tecnológicos capazes de potencializar a resolução de delitos. Realizou-se uma revisão narrativa de literatura descritiva e qualitativa, com buscas efetuadas entre 2025 e 2026 nas bases SciELO, Google Acadêmico, ScienceDirect e Journal of Forensic Sciences. Incluíram-se estudos em português, inglês e espanhol publicados entre 2021 e 2026, além de literatura clássica para fundamentação teórica, excluindo-se pesquisas estritamente laboratoriais ou do âmbito da hematologia forense reconstrutora. Os resultados apontam que a Imagem Hiperspectral (HSI) integrada à Inteligência Artificial atua como ferramenta revolucionária ao isolar a assinatura molecular da hemoglobina, eliminando falsos positivos e permitindo a diferenciação interespecies automatizada. Adicionalmente, constatou-se o avanço na datação não destrutiva de manchas de sangue em locais de crime por espectroscopia portátil (Raman/FTIR) que, ao monitorar a degradação química da hemoglobina, estima matematicamente o intervalo de tempo do fato. Conclui-se que o avanço tecnológico da criminalística não pode depender apenas do esforço acadêmico, sendo imperativo que o Poder Público assuma seu papel central mediante formulação de políticas públicas estruturadas e investimentos financeiros contínuos para a modernização laboratorial e a consolidação prática dessas novas ferramentas na rotina pericial.

**Palavras-chave:** Hematologia Forense. Imagem Hiperspectral. Espectroscopia Portátil. Políticas Públicas. Criminalística.

---

<sup>1</sup> Graduanda de Biomedicina. Centro Universitário FAMETRO.

<sup>2</sup> Docente no Centro Universitário Fametro. Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia,.

**RESUMEN:** La hematología forense es crucial en la elucidación de delitos, pero los métodos tradicionales presentan limitaciones severas, como falsos positivos e inespecificidad para la sangre humana. Este estudio analizó las herramientas metodológicas en perfeccionamiento de la hematología forense identificadora, investigando avances tecnológicos capaces de potenciar la resolución de delitos. Se realizó una revisión narrativa de la literatura, de carácter descriptivo y cualitativo, con búsquedas efectuadas entre 2025 y 2026 en las bases de datos SciELO, Google Académico, ScienceDirect y Journal of Forensic Sciences. Se incluyeron estudios en portugués, inglés y español publicados entre 2021 y 2026, además de literatura clásica para la fundamentación teórica, excluyendo investigaciones estrictamente laboratoriales o del ámbito de la hematología forense reestructuradora. Los resultados señalan que la Imagen Hiperspectral (HSI) integrada a la Inteligencia Artificial actúa como una herramienta revolucionaria al aislar la firma molecular de la hemoglobina, eliminando falsos positivos y permitiendo la diferenciación interespecies automatizada. Adicionalmente, se constató el avance en la datación no destructiva de manchas de sangre en escenas del crimen mediante espectroscopia portátil (Raman/FTIR) que, al monitorear la degradación química de la hemoglobina, estima matemáticamente el intervalo de tiempo del hecho. Se concluye que el avance tecnológico de la criminalística no puede depender únicamente del esfuerzo académico, siendo imperativo que el Poder Público asuma su papel central mediante la formulación de políticas públicas estructuradas e inversiones financieras continuas para la modernización de los laboratorios y la consolidación práctica de estas nuevas herramientas en la rutina pericial.

**Palabras clave:** Hematología Forense. Imagen Hiperspectral. Espectroscopia Portátil. Políticas Públicas. Criminalística.

**ABSTRACT:** Forensic hematology is crucial in solving crimes, but traditional methods present severe limitations, such as false positives and a lack of specificity for human blood. This study analyzed the improving methodological tools of identifying forensic hematology, investigating technological advances capable of enhancing crime resolution. A descriptive and qualitative narrative literature review was conducted, with searches performed between 2025 and 2026 in the SciELO, Google Scholar, ScienceDirect, and Journal of Forensic Sciences databases. Studies in Portuguese, English, and Spanish published between 2021 and 2026 were included, as well as classic literature for theoretical foundation; strictly laboratory-based research or studies within the scope of reconstructive forensic hematology were excluded. The results indicate that Hyperspectral Imaging (HSI) integrated with Artificial Intelligence acts as a revolutionary tool by isolating the molecular signature of hemoglobin, eliminating false positives and enabling automated interspecies differentiation. Additionally, progress was observed in the non-destructive dating of bloodstains at crime scenes through portable spectroscopy (Raman/FTIR) which, by monitoring the chemical degradation of hemoglobin, mathematically estimates the time interval of the event. It is concluded that the technological advancement of criminalistics cannot depend solely on academic effort; it is imperative that the Public Power assume its central role through the formulation of structured public policies and continuous financial investments for laboratory modernization and the practical consolidation of these new tools in routine expert analysis.

**Keywords:** Forensic Hematology. Hyperspectral Imaging. Portable Spectroscopy. Public Policies. Criminalistics.

## I. INTRODUÇÃO

O setor forense depende amplamente de testes hematológicos para identificar sangue e sangue humano em cenas de crime, englobando a área denominada Hematologia Forense. Esta disciplina estuda vestígios de sangue em prol da elucidação de crimes, os quais podem se apresentar na forma de poças, gotas ou manchas. A coleta e análise desse elemento biológico permitem obter resultados cruciais que vão desde a identificação de indivíduos até a compreensão da dinâmica de atividades executadas por vítima e agressor.

Por ser um fluido corporal classificado como vestígio orgânico de extrema importância e com alto potencial identificador, o sangue possui grande inclinação probatória na esfera judicial, sendo útil para distinguir indivíduos, localizar objetos usados como armas e reconstruir cenários de delitos (Alves; Boaventura, 2021).

Segundo Dias Filho e Francez (2022), doutrinariamente, a hematologia forense divide-se em duas vertentes: a Reconstritora e a Identificadora. A Hematologia Forense Reconstritora foca na reconstituição da dinâmica dos crimes por meio da análise dos padrões morfológicos deixados pelas manchas de sangue, deduzindo a força, direção e movimento do fluido para responder a questões sobre a sequência dos eventos e as posições dos envolvidos. Por outro lado, a Hematologia Forense Identificadora aplica-se na identificação e individualização de vestígios sanguíneos, buscando determinar sua natureza (se o material é sangue), sua origem (se é humano ou animal) e seu perfil genético exclusivo através de análises de DNA.

Para o cumprimento da etapa identificadora, a rotina pericial utiliza tradicionalmente testes presuntivos de orientação (como Luminol e Kastle-Meyer) e testes confirmatórios (testes imunocromatográficos). No entanto, o sangue é o material biológico com maior presença em locais de crime, mas compartilha o cenário com outras substâncias avermelhadas (como molho de tomate ou tintas), exigindo alta especificidade das técnicas aplicadas (Costa et al., 2020).

De acordo com Costa et al. (2020) é nesse ponto que os métodos tradicionais revelam limitações severas. Reagentes como o Luminol e testes imunocromatográficos enfrentam problemas de inespecificidade para o sangue humano, reações cruzadas com vegetais que possuem atividade peroxidase semelhante à hemoglobina, e falsos positivos causados por agentes oxidantes comuns, como o hipoclorito de sódio. Além disso, embora as equipes de investigação utilizem luzes forenses em comprimentos de onda variados, a eficácia dessa detecção visual é altamente dependente da cor e da natureza do fundo onde o vestígio se encontra.

Diante dessas fragilidades metodológicas e da necessidade de otimizar a rotina de detecção e análise de vestígios, surge o seguinte problema de pesquisa: de que maneira as novas ferramentas tecnológicas em desenvolvimento na hematologia forense identificadora podem superar as limitações das técnicas tradicionais e potencializar a resolução de delitos de forma precisa e não destrutiva? A justificativa para este estudo fundamenta-se na busca constante por melhorias na atividade pericial que impactem diretamente a sociedade, visto que a evolução das análises hematológicas é imperativa para tornar o trabalho dos investigadores mais rápido, assertivo e econômico.

Este estudo estabelece como objetivo geral analisar as ferramentas metodológicas da hematologia forense identificadora em aprimoramento, investigando avanços técnicos capazes de potencializar a resolução de crimes. Para alcançar essa meta, definiram-se como propósitos específicos a identificação das técnicas tradicionais com suas respectivas aplicações e limitações, além do apontamento da eficácia das novas ferramentas em relação aos métodos analíticos preexistentes. Por fim, a pesquisa busca discorrer sobre a relevância de testes periciais mais precisos para cooperar nas investigações criminais.

Al-Alimi e Al-Qaness (2025) assumem que tecnologias emergentes, como a Imagem Hiperespectral (HSI) baseada em Espectroscopia Molecular, surgem como alternativas promissoras ao capturar amplos espectros de luz para cada pixel de uma imagem, viabilizando a detecção de "impressões digitais" moleculares do sangue sem contato físico com a amostra. Portanto, o seguinte estudo se mostra necessário para compilar e analisar essas inovações, gerando informações precisas que colaborem para a modernização da criminalística e a consolidação de provas judiciais irrefutáveis.

## 2. METODOLOGIA

Este estudo consiste em uma revisão narrativa de literatura, descritiva e qualitativa, sobre os avanços nas práticas analíticas da hematologia forense identificadora em locais de crime. O levantamento bibliográfico foi realizado entre agosto de 2025 e abril de 2026 nas bases Google Acadêmico, Journal of Forensic Sciences, SciELO, LILACS, BVS, ScienceDirect e ResearchGate, utilizando os operadores booleanos AND, OR e NOT combinados aos descritores: Hematologia, Forense, Sangue, Crime, Identificação, Sangue Humano, Material Biológico, Medicina Forense, Análise e Ciência Forense. Além de livros técnicos, dissertações e publicações de institutos de criminalística, incluíram-se artigos em português, espanhol e

inglês publicados entre 2021 e 2026 para discussão de novas ferramentas, ou anteriores a 2021 apenas para fundamentação histórica. Excluíram-se estudos com mais de 5 anos nos tópicos que exigiam atualidade, textos de opinião, editoriais, resumos simples, trabalhos sem validação científica, arquivos sem acesso integral, técnicas puramente laboratoriais e pesquisas focadas na Hematologia Forense Reconstituidora. Por fim, a coleta de dados envolveu o fichamento e a extração de ideias do material selecionado, seguido de uma análise qualitativa e ordenação sistemática das fontes para identificar convergências, lacunas e divergências na literatura, fundamentando a argumentação crítica.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Fundamentos da hematologia forense identificadora

A Hematologia Forense de Identificação está inserida no âmbito criminal fornecendo elementos que assessoram na instrução e na apuração de infrações penais. Como o próprio nome sugere, ocorre a identificação de vestígios hemáticos, podendo haver análises no local do crime ou coletas para análise em laboratório. Esses vestígios são localizados a olho nu ou por aparelhos especializados, que buscam a identificação genérica, específica e individual dos rastros encontrados. Isso contribui para a reconstrução da dinâmica de evento (Lopes *et al.*, 2021).

5

No local de um delito, são executados testes categorizados em Presuntivos e de Triagem Imunocromatográfica. No laboratório, se realizam exames de Confirmação (Cristalografia) e Individualização (DNA). No que diz respeito à área do crime, a escolha do teste adequado é crucial para assegurar a estabilidade de três aspectos fundamentais: a segurança do perito, a preservação do DNA e a facilidade de preparo da amostra (NIJ, 2023).

As diretrizes da Polícia Científica do Paraná (2026) afirmam que os testes de presunção são subdivididos em testes de coloração (cromogênicos) e de luminescência (fluorescentes). Como esperado, os testes de coloração são baseados na mudança notável de cor do reagente ao entrar em contato com uma amostra de sangue. Já os testes de luminescência não mudam de cor, mas emitem luz própria em ambientes escuros, como resultado da reação entre o reagente e a amostra de sangue. Os imunocromatográficos funcionam por meio de dispositivos portáteis de triagem biológica que utilizam a reação específica entre antígenos e anticorpos para identificar a origem de uma amostra de sangue no próprio local de crime.

O que faz com que os métodos presuntivos sejam ideais para a triagem imediata e detecção de vestígios é a alta sensibilidade, pois detectam quantidades mínimas de sangue

(inclusive manchas invisíveis a olho nu). Contudo, os métodos clássicos têm baixa especificidade, fazendo com que haja detecções com resultados falso-positivos devido à presença de substâncias que reagem de forma semelhante ao sangue. Os imunológicos apresentam elevada sensibilidade e especificidade. A primeira se deve à capacidade de detectar baixas concentrações de hemoglobina, enquanto a segunda ocorre porque os testes são programados para reagir exclusivamente ao sangue humano (Stroud *et al*, 2023).

Os processos laboratoriais iniciam-se antes mesmo da chegada ao Laboratório Forense, seguindo rigorosamente etapas para assegurar a cadeia de custódia e a validade jurídica das provas. O estágio laboratorial de Hematologia Forense de Identificação tem como objetivo transformar os vestígios sanguíneos em evidências incontestáveis. Assim como os exames laboratoriais, os forenses também apresentam três fases: Pré-Analítica, Analítica e Pós-Analítica (BRASIL, 2024).

Conforme os dados publicados pela Polícia Científica do Estado do Espírito Santo (2024) depois de confirmar a origem humana do sangue por meio da imunocromatografia, na fase pré-analítica se faz a coleta, conservação e transporte de amostras sanguíneas. É nessa fase que ocorrem 70% dos erros, invalidando o andamento pericial. O sangue é analisado e coletado de acordo com o seu estado de conservação, podendo ser seco ou fresco. O estado fresco (líquido ou úmido) é coletado conforme a superfície, podendo ser absorvente ou não. Em materiais não absorventes (pisos, vidros, metais e outros), podem ser usados Cartões de Absorção (papel filtro) ou Swabs Estéreis.

Hercules (2014) cita que o papel filtro é o mais aconselhável, uma vez que absorve o sangue através da capilaridade e, ao ser absorvido, é colocado para secar naturalmente em um local com sombra para ser armazenado posteriormente. Caso a opção seja o uso de Swabs Secos, o sangue deve entrar em contato com o swab que o absorve e, em seguida, é posto em um suporte para receber ventilação até a secagem total. Em superfícies absorventes (tecidos, esponjas e outros), ocorre a coleta do material inteiro ou um recorte dele (caso o material seja grande) para armazenamento.

A manipulação de tecidos segue um critério rigoroso, de modo que as peças não podem ser amassadas, dobradas ou enroladas, pois essas ações alteram o padrão original das manchas de sangue, o que pode causar atrasos para a equipe de Hematologia Forense Reconstructora futuramente. Acondicionar o material coletado em envelopes de papel ou caixas de papelão respiráveis, pois mantém a estabilidade. Materiais plásticos não são permitidos no

acondicionamento, porque favorecem a proliferação de fungos e bactérias, que destroem o DNA das amostras em poucas horas (Hercules, 2014).

Em caso de amostras líquidas coletadas por seringas ou recipientes, deve haver refrigeração entre 2°C e 8°C de temperatura até a chegada ao laboratório. Além de revelar o DNA de um indivíduo, o sangue fresco pode ser usado para medir o tempo em que o sangue coagula (entre 3 e 15 minutos), auxiliando na determinação do tempo de ocorrência do evento criminal. Esses procedimentos são necessários para evitar a hemólise e contaminação de amostras que inviabilizam o exame de DNA (Silva, 2018).

O sangue seco, por ter perdido a umidade, se adere a uma superfície (formando crostas) ou fica envolto em fibras (tecidos) e fissuras. Esta condição requer a restauração da integridade da amostra sem destruir o DNA ou contaminar a amostra. Os principais métodos de coleta de sangue seco são: raspagem, swab umedecido, recorte ou coleta de material/superfície e fita adesiva (Roncato; Serra; Fernandes, 2023)

A técnica de raspagem (Scraping) é usada em superfícies lisas, onde o perito usa uma ferramenta estéril para raspar a crosta de sangue para um envelope ou frasco seco. Tendo como vantagem a coleta de sangue puro sem umidade que possa degradá-lo. O swab umedecido (Swabbing) é usado em manchas pequenas ou de difícil acesso. Ele é umedecido com soro fisiológico ou água destilada, permitindo que a extremidade toque a área com sangue até que o algodão absorva. Depois disso, deve ser seco em temperatura ambiente antes de poder ser armazenado (Paschoalini, 2019).

O recorte ou coleta de suporte é feito quando o sangue está impregnado em tecidos grossos, porosos etc. Ocorre um recorte onde a mancha se encontra e, se a peça não for grande ou pesada demais, é enviada a peça inteira para análise laboratorial. Também é coletada uma parte sem sangue para fins de controle de análise. A fita adesiva (Lifting) é a técnica menos utilizada, mas útil para manchas secas e quebradiças em superfícies irregulares. A fita é pressionada sobre a mancha, permitindo que os fragmentos se coleem nela. Em seguida, é fixada em cartões/suportes de acetato ou folhas plásticas transparentes, que preservam a amostra e permitem visualização (Lopes, 2011).

Por se tratar de sangue seco e desidratado, o uso de material plástico é permitido. É permitido conservar amostras secas em temperatura ambiente e em locais secos e escuros. Em preservações de longo prazo é recomendado manter a 4°C de temperatura. O ambiente de

armazenamento deve ser escuro e se deve evitar luz solar, pois os raios UV degradam o DNA rapidamente (PARAÍBA, 2023).

Na fase analítica, já dentro do laboratório, as amostras são mais uma vez submetidas à testes presuntivos e de imunocromatografia, como forma de prevenção e asseguarção do que foi feito no local de crime, tanto por confirmação do fato quanto por questões de validação jurídica. Essa é uma prática feita de forma internacional, considerada padrão ouro em vários países, incluindo o Brasil, seguindo uma lógica de redundância e segurança, considerada necessária para o laudo pericial (Butler, 2012).

Após todo o processo, ocorre a Individualização (Identificação) das amostras, que resumidamente se divide em Tipagem Sanguínea e Perfil de DNA. A Tipagem Sanguínea (ABO/RH) é utilizada como método de exclusão rápido e a Análise de Perfil de DNA atua fazendo a extração, quantificação, amplificação e eletroforese do material genético para comparação com suspeitos ou busca em banco de dados criminais. Nesse estágio, as áreas de Hematologia e Genética Forense se complementam para realizar análises complexas e chegar a resultados assertivos (Jobim, 2021).

Na etapa pós-analítica, conclui-se todo o processo pericial, incluindo a elaboração de laudos e interpretações periciais, e a disponibilização dessas informações à justiça. Os resultados dos exames realizados são analisados, apresentando probabilidades sobre a precisão do resultado atribuído pertencente à vítima ou ao suspeito. O laudo pericial elaborado detalha a metodologia utilizada do início ao fim, bem como as limitações que surgiram ao longo do processo analítico e conclusões técnico-científicas (Horta, 2020).

### 3.2 Métodos clássicos

Conforme mencionado anteriormente, nos locais de delitos são realizados testes presuntivos e de imunocromatografia. Os presuntivos indicam a possível presença de sangue através da atividade catalisadora da hemoglobina, que ao reagir com peróxidos libera oxigênio e oxida o reagente, resultando em coloração ou luminescência. Dessa forma, classificam-se os testes presuntivos em cromogênicos e luminescentes. Os imunocromatográficos concentram-se na especificidade antígeno-anticorpo, identificando proteínas humanas específicas, como a Hemoglobina ou a Glicoforina A, através de anticorpos monoclonais marcados com corante que migram por uma membrana de nitrocelulose (Júnior; Ramos, 2012).

O exame de Kastle-Meyer é uma das técnicas mais empregadas na identificação de sangue em cenários criminais. Nela utiliza-se um composto químico chamado Fenolftaleína como um marcador de pH. Em condições ácidas ou neutras, ele se apresenta incolor, enquanto em condições básicas, ele se apresenta como rosa ou roxo. Para a análise, este composto se encontra em sua versão reduzida, sendo incolor, mas ao entrar em contato com sangue, resulta em uma coloração rosada. A hemoglobina no sangue age como peroxidase, que ao entrar em contato com peróxido de hidrogênio libera oxigênio, causando oxidação na fenolftaleína reduzida, resultando a cor rosa (Espindula, 2013).

O método de KM tem duas variações, uma direta e uma indireta. Na direta os reagentes são aplicados diretamente no sangue sem ser retirado do local encontrado, na indireta o sangue é recolhido por papel filtro ou swab umedecido em solução salina, com a adição de álcool etílico para facilitar a exposição da hemoglobina e ampliar a sensibilidade. Após isso, acrescenta-se fenolftaleína reduzida e, depois de alguns segundos, é possível observar se houve alteração de cor. Se o teste apresentar a cor rosa, será inválido, pois a amostra foi contaminada por oxidantes químicos. Do contrário, se acrescenta peróxido de hidrogênio e, se surgir a cor rosa imediatamente, o teste é considerado positivo. A forma direta é a menos usada e recomendada pelos peritos, pois afeta toda a amostra de sangue encontrada, sem chance de reutilizá-la (Zaracho, 2017).

O Teste de Adler-Ascarelli também é um teste tradicional de orientação, baseado na atividade catalítica da hemoglobina. Neste caso, o composto em questão é a benzidina em pó, que é dissolvida em pequena quantidade em um solvente ácido (geralmente o ácido acético glacial) e mantida em frascos fechados que a protejam da degradação da luz, até que seja possível reutilizá-la como reagente já pronto (Stumvoll *et al.*, 2014).

Nessa circunstância, o perito também não aplica o reagente diretamente à amostra encontrada, para evitar a contaminação e degradação do DNA. Na coleta, usa-se papel filtro ou swab umedecido em água destilada ou soro fisiológico, que entra em contato com a amostra até que a própria seja transferida em pouca quantidade. Após isso, não derramadas 1 ou 2 gotas do reagente preparado e são aguardados 30 segundos. Se houver mudança imediata para a cor azul, a amostra foi contaminada por oxidantes. Se nada acontecer após 30 segundos, é adicionado peróxido de hidrogênio, que ao reagir com a hemoglobina, libera oxigênio, oxidando a benzidina. O resultado é positivo quando surge uma cor azul intensa ou azul-esverdeada (Dantas, 2016).

O Tetrametilbenzidina (TMB) é um aprimoramento seguro do teste de Adler, desenvolvido para preservar a sensibilidade da benzidina, porém sem as características carcinogênicas do reagente original. Trata-se de um dos compostos mais frequentemente encontrados em kits de campo periciais e tiras reagentes para a detecção de sangue. Na década de 1970, o teste de Adler foi consolidado, em substituição ao anterior. A TMB possui uma única distinção em relação aos testes anteriormente mencionados, que são seus dois estágios de oxidação (De Vittori *et al.*, 2016).

Após a coleta da amostra, é necessário que o swab seja seco ou levemente umedecido com água deionizada. Geralmente, a TMB é diluída em ácido acético glacial e água, para que possa ser pingada no swab. Após alguns segundos, verifica-se se ocorrem mudanças na cor devido à possível presença de oxidantes na amostra. Se não ocorrer alteração, aplica-se peróxido de hidrogênio, que quando em contato com sangue irá resultar em um positivo, exibindo uma cor azul ou verde-azulada (James *et al.*, 2014).

Teste de Ortho-Tolidina (O-Tolidina) A TMB não foi a única que substituiu a benzidina, a orto-tolidina, uma substância derivada da benzidina, também a substituiu, pois era quimicamente semelhante a benzidina, embora fosse um pouco menos perigosa. Os procedimentos para o resultado do teste permaneceram os mesmos (feitos no Adler), mas, no local de crime, a escolha pelo TMB se sobressai, uma vez que o composto impede a formação de metabólitos causadores de câncer, tornando o orto-tolidina desvantajoso, apesar de ser considerado superior a outros reagentes por revelar detalhes de papilas dérmicas em manchas de sangue (Robinson, 2024).

O Teste de Leucomalaquita-verde (LMG) é considerado um dos testes cromogênicos mais confiáveis na rotina pericial. Ele segue a lógica dos testes anteriores, mas o contato com a hemoglobina resulta em uma coloração verde-azulada intensa. O termo “leuco” refere-se à forma reduzida (incolor) da malaquita verde usada no exame. Este teste é seletivo por reagir raramente com peroxidases vegetais e ter um protocolo de duas etapas mais assertivo. Embora os outros exames também sigam esse protocolo, a LMG detecta um erro químico antes mesmo de testar o sangue (com a adição de peróxido de hidrogênio), resultando em um falso positivo de verde-esmeralda difícil de ser ignorado. Além disso, possui estabilidade química, tornando difícil a reação com oxidantes prejudiciais (Jaremko, 2024).

O Teste de Leucocristal Violeta (LCV) é uma variante jovem do leucomalaquita verde, baseada também na atividade de peroxidase, mas com uma aplicação mais específica na

criminalística, caracterizada pela revelação de impressões (papiloscopia) em sangue. Enquanto o LMG é usado em manchas, o LCV consegue captar detalhes que a visão humana não consegue (Spence; Asmussen, 2003).

O LCV é elaborado de forma a conter o reagente, o oxidante e o fixador (como o ácido 5-sulfossalicílico) em uma única solução. O perito borrifa a solução em uma pegada ou impressão digital diretamente sem danificá-la. A aplicação é indicada para superfícies porosas e não porosas (pisos, tapetes, paredes). A forma “leuco” (incolor) quando oxidado em contato com a hemoglobina, transforma-se em uma coloração violeta/roxo intensa, permitindo que o local seja fotografado em alta resolução para a análise da perícia papiloscópica (Bossers; McDonagh, 2011).

O Teste de Pyramidon é um teste cromogênico que utiliza como reagente principal o Pyramidon (aminopirina), que é dissolvido em álcool etílico, acompanhado de ácido acético glacial. O perito aplica a solução de Pyramidon na mancha de sangue e, posteriormente, aplica peróxido de hidrogênio, provocando a oxidação do reagente na possível presença de sangue (França, 2017).

Em caso de resultado positivo, surge a cor violeta (púrpura), enquanto em caso contrário, permanece sem alteração na coloração. Devido à sua alta sensibilidade, já teve grande valor no setor criminal, sendo reconhecido por identificar sangue em diluições extremamente altas. No entanto, a falta de especificidade o fez perder espaço para testes como a Fenolftaleína e a Leucomalaquita Verde, considerados mais específicos na rotina forense moderna no Brasil e em outros países (Chemello, 2026).

O Teste de Van-Deen (ou Schöbein-Van Deen) foi o primeiro teste presuntivo de coloração, considerado o primeiro grande teste. Embora tenha se tornado obsoleto, tem uma grande relevância na história evolutiva da ciência forense. Este teste emprega um reagente de origem vegetal, o guaiaco, obtido da resina da árvore *Guaiacum Officinale*, sendo o elemento chave do teste de Van-Deen. Por ser uma técnica antiga, o reagente muitas vezes era aplicado diretamente na amostra ambientada ou em raspagem de amostra, por não existir a coleta com swab (Eppenberger *et al.*, 2017).

Também se fundamenta na atividade de peroxidase da hemoglobina, utilizando o ácido guaiacônico como reagente e peróxido de hidrogênio como ativador. Sem a presença de hemoglobina, a solução permanece sem cor. No entanto, quando a hemoglobina está presente, a oxidação do reagente resulta em um azul intenso. Devido à sua sensibilidade reduzida e ao

grande número de falsos positivos, foi substituído por reagentes mais modernos (Tsarevsky, 2017).

Segundo Soares *et al.* (2022) na luminescência ocorre a busca por sangue latente (invisível a olho nu), seguindo a lógica de reação peroxidásica da hemoglobina. Nessa situação, quando o reagente específico e o peróxido de hidrogênio entram em contato com o sangue, a oxidação resulta na liberação de energia em forma de luz.

O Luminol é o mais famoso desta categoria, para reagir ele precisa estar em um meio alcalino. Ao ser oxidado após o contato com a hemoglobina, a oxidação agita os elétrons do luminol, que ao retornarem ao seu estado anterior, liberam energia em forma de fótons, gerando a quimioluminescência azulada (Velho *et al.*, 2017).

Para que o procedimento seja feito, o local deve estar completamente escuro, pois a luz emitida na reação é fraca e dura cerca de 30 segundos. A solução com reagente é preparada no momento de análise para evitar a degradação de componentes e é borrifada em locais suspeitos, borrifando a solução de forma que fique bem espalhada nas superfícies. Com o aparecimento da luz azul, são tiradas fotos para captar o brilho enquanto se faz um leve preenchimento com lanterna ou flash para mostrar o entorno (Silva, 2012).

O Blue Star é um método com a mesma base química do luminol, mas com maior estabilidade e otimização, sendo considerado o preferido da perícia criminal pela sua praticidade e maior tempo de duração na reação com o sangue. Sua praticidade deve-se ao rápido preparo do reagente. O kit comercial do BlueStar tem formulações comerciais diferentes do luminol, vem com dois tabletes (um branco e um bege claro) que são adicionados a um frasco borrifador contendo 125 mL de água destilada, onde são agitados de forma circular para evitar o surgimento de bolhas, durante 1 a 2 minutos. O tablete branco contém o agente oxidante, composto por perborato de sódio (em algumas variantes, peróxido de ureia); quando dissolvido em água, libera peróxido de hidrogênio (Lovig *et al.*, 2018).

No tablete bege-claro, encontram-se o reagente e a base, ou seja, a 3-aminofal-hidrazida e agentes alcalinos (geralmente hidróxido de sódio ou carbonato de sódio). Além de estabilizadores e catalisadores, que controlam a velocidade da reação para que o brilho se torne mais intenso e dure mais tempo. Os tabletes chegam separados porque o agente oxidante é muito reativo e, se tivesse contato direto com os outros componentes, perderia a validade de uso rapidamente devido à umidade do ar. É borrifada uma névoa fina e uniforme sobre a superfície

desejada, para evitar a destruição do padrão da mancha, resultando em um brilho azul intenso e imediato na presença de sangue (BLUESTAR FORENSIC, [202?]).

Em caso de falso positivo, o brilho parecerá intenso, mas logo se apagará, como um lampejo, ou ficará uniforme por toda a mancha, sem apresentar a textura que se observa no contato com o sangue. Em reações com metais, o brilho torna-se amarelado ou esverdeado, diferente do azul cobalto que indica um teste positivo. O método também é aclamado por identificar sangue em altas diluições (de até 1:100.000) e não degrada o material genético da amostra (Dominici, 2023).

O Lumiscene também se trata de uma formulação mais evoluída do luminol, oferecendo uma luminescência mais intensa e duradoura, que facilita o registro fotográfico e a análise de campo. Apesar de ser menos comum, compete diretamente com o BlueStar em termos de praticidade e menor toxicidade, pois é uma solução que busca equilibrar a estabilidade do brilho e a facilidade de aplicação. O nível de sensibilidade do Lumiscene é tão elevado a ponto de detectar sangue em uma parede que foi pintada com duas camadas de tinta. Neste caso, o kit comercial contém dois frascos para o preparo do teste (Soares *et al.*, 2022).

No Frasco 1, encontra-se o reagente e o agente alcalinizante em solução líquida; no Frasco 2, há uma pastilha ou pó ativador contendo o agente oxidante (geralmente peróxido de hidrogênio sólido). A pastilha (ou o pó) é adicionada ao frasco contendo a solução líquida, devendo ser agitada suavemente até sua dissolução, tornando-a ativa. A vida útil da solução completa é de algumas horas; com o passar desse período, ocorre a perda da eficácia, sendo ideal prepará-la apenas na hora do exame. A aplicação exige escuridão total, com a pulverização de uma névoa fina a cerca de 30 a 50 cm de distância da superfície desejada, mantendo cuidado e evitando danificar o sangue. Um resultado positivo gera uma luz azul brilhante e intensa (Jonsson, 2017).

A Fluoresceína diferente do luminol, não emite luz própria, por ser um método de fluorescência, precisa de uma fonte de luz externa para poder brilhar. O reagente utilizado nesta técnica é a fluorescina (forma reduzida), que quando borrifada sobre o sangue é oxidada ao entrar em contato com a hemoglobina, transformando-a em fluoresceína, que tem propriedades intensas quando atingida por comprimentos de onda específicos, luz azul ou UV (Tomboc, 2011).

O Hemascein é a formulação comercial otimizada da fluoresceína, contendo estabilidade química, redução de ruído visual, aplicação que ocorre em duas etapas, sensibilidade e é

considerado não destrutivo (não causa danos ao DNA). A fluoresceína tradicional é um composto muito sensível ao pH e à luz; assim, o hemasceína foi criado para agir com mais estabilidade, garantindo segurança quando o perito for borrifar a solução, mantendo a eficácia do reagente (Muralidahr, 2019).

O ruído visual trata-se da limitação da fluoresceína em concentrar a fluorescência no sangue demarcado: a fluoresceína transmite um brilho excessivo, dificultando a distinção entre o que é sangue e o que é reagente. A redução desse ruído é garantida pelo hemasceína, que tem uma afinidade maior com o grupo heme, fazendo com que gere um contraste mais nítido nas fotografias forenses. Isso se deve ao estado de fluoresceína presente no frasco, sendo a forma reduzida e incolor, que, ao entrar em contato com o sangue e o peróxido, volta para sua forma original, brilhando sob a luz azul (luz alternativa ajustada na faixa de 415 nm a 480 nm, com pico ideal de excitação em 455 nm a 460 nm) usada para visualizar e fotografar o resultado (Finnis *et al.*, 2013).

De acordo com Lowis *et al.* (2011) o sistema de aplicação em duas etapas do Hemascein resume-se em: aplicação do reagente (etapa 1) e aplicação do agente oxidante (etapa 2). Essa separação faz com que a catálise advinda da hemoglobina se fixe no sangue, evitando que o reagente deforme a amostra sanguínea em questão. Portanto, este teste mantém o material genético viável e íntegro para análises posteriores.

Na imunocromatografia forense, existem quatro testes que são os mais utilizados em locais de crime e todos funcionam de forma similar, tendo o objetivo de detectar hemoglobina humana nas amostras coletadas. Dois deles são considerados padrão-ouro: são eles o Hexagon-OBTI e o ABACard Hematrace. O Hexagon é a técnica mais utilizada no Brasil e o Hematrace, a mais utilizada internacionalmente. Os outros dois testes trata-se do RSID-Blood (Rapid Stain Identification) e do Seratec HemDirect. Todos eles podem ter mais de uma forma de coleta (Cuttaia *et al.*, 2024).

A forma tradicional trata-se do cartucho imunocromatográfico e swab, onde o swab estéril levemente umedecido em água destilada é esfregado na amostra escolhida, para que depois possa ser quebrado e apenas a parte com a amostra seja mergulhada em um frasco contendo um líquido denominado tampão de extração. As proteínas presentes no sangue são extraídas e, após isso, o líquido é aplicado no cartucho imunocromatográfico (Horjan *et al.*, 2016).

De acordo com Hermon *et al.* (2023) outra forma de teste é por raspagem ou recorte. Caso o sangue esteja em uma superfície recortável (como no caso de roupas), parte desse material é recortada e adicionada dentro de um frasco tampão. Em caso de superfícies duras, é feita uma raspagem com bisturi e a crosta retirada é adicionada ao frasco tampão. Em outros casos, há dispositivos mais modernos que contêm hastes coletoras acopladas à tampa do frasco com reagente, ou o dispositivo contém uma zona de captação capilar que encosta na amostra diluída diretamente, evitando o uso de swab tradicional e a perda de material.

### 3.3 Limitações dos métodos clássicos

Segundo Roncato, Serra e Fernandes (2023), os exames da hematologia forense identificadora são cruciais no início da investigação criminal, embora demandem triagem rigorosa. Dentre as técnicas utilizadas, os testes presuntivos cromogênicos baseiam-se na atividade pseudoperoxidase da hemoglobina para promover a alteração de cor dos reagentes. Contudo, essa abordagem apresenta severas limitações em locais de crime, destacando-se a elevada incidência de falsos positivos causados por peroxidases vegetais e agentes oxidantes. Ademais, a aplicação direta dessas substâncias provoca a degradação parcial do DNA leucocitário, comprometendo a individualização genética posterior. Soma-se a isso o risco ocupacional devido à toxicidade crônica de compostos como a benzidina. Por fim, a interpretação exibe caráter subjetivo, ficando suscetível a erros por iluminação inadequada.

Os métodos presuntivos luminescentes (como o Luminol, BlueStar e Fluoresceína) operam via emissão de luz ao reagirem com o ferro da hemoglobina. Todavia, essa categoria apresenta restrições severas em campo, a começar pela vulnerabilidade a falsos positivos disparados por metais, fezes e produtos clorados. Adicionalmente, a exigência de escuridão total para a visualização do brilho inviabiliza ou dificulta o emprego da técnica em ambientes abertos ou diurnos. Há também o risco de efeito diluidor decorrente da aplicação líquida por aspersão, o que pode mascarar padrões geométricos de manchas e degradar o DNA. Por fim, o curto tempo de emissão luminosa impõe a necessidade de um registro fotográfico imediato e de alta precisão técnica sob pena de perda do vestígio (Pereira *et al.*, 2025).

De acordo com Pereira *et al.* (2025), os métodos imunocromatográficos modernos atuam como testes de certeza na identificação da hemoglobina humana (hHb – sigla do inglês, *Human Hemoglobin*) por especificidade antigênica, mas sofrem limitações críticas. A principal delas é o "efeito gancho" (*hook effect*), em que o excesso massivo de antígenos satura os anticorpos,

impedindo a reação em sanduíche e gerando falsos negativos. Adicionalmente, ocorrem reações cruzadas com sangue de primatas superiores e outros mamíferos, comprometendo a especificidade absoluta. Há também sensibilidade limitada diante de amostras degradadas por calor ou radiação solar, fatores que desnaturam a proteína e anulam o sítio de ligação do anticorpo. Por fim, a fragilidade térmica dos kits exige armazenamento controlado sob risco de invalidação biológica dos insumos.

### 3.4 Avanços na detecção de sangue

A evolução das práticas analíticas na hematologia forense tem buscado superar as limitações dos métodos colorimétricos e quimiluminescentes tradicionais, migrando para técnicas instrumentais mais precisas e não destrutivas. Nesse cenário, a Espectroscopia Raman e o Infravermelho (FT-IR) destacam-se como ferramentas promissoras, permitindo a confirmação da natureza do fluido biológico e a diferenciação entre espécies sem o consumo da amostra, o que viabiliza análises genéticas posteriores em materiais escassos (McLin; López-López, 2023).

Além disso, a integração de dispositivos de microfluídica e biossensores eletroquímicos no local de crime, o conceito de lab-on-a-chip, representa um avanço significativo para a identificação imediata de marcadores hemoglobínicos, conferindo maior objetividade aos exames periciais e reduzindo o tempo de resposta entre a coleta e o diagnóstico individualizado. No âmbito da criminalística, a localização de vestígios biológicos latentes em locais de crime é viabilizada primordialmente pelo uso do luminol ( $C_8H_7N_3O_2$ ). Este reagente baseia-se na atividade peroxidásica do grupo heme da hemoglobina, que atua como catalisador na reação de oxidação em meio alcalino, resultando no fenômeno da quimiluminescência (Silva *et al.*, 2021).

Embora apresente alta sensibilidade, sendo capaz de detectar diluições extremas, o luminol é classificado como um teste de orientação ou presuntivo, visto que agentes oxidantes externos e peroxidases vegetais podem gerar resultados falso-positivos. Portanto, a reação luminescente atua como etapa preliminar indispensável, direcionando a coleta de material para as etapas subsequentes da hematologia identificadora, as quais visam confirmar a natureza humana do tecido e possibilitar a individualização por meio de perfis genéticos, sem que o reagente comprometa a integridade das amostras de DNA (Fragoso *et al.*, 2021).

A Imagem Hiperspectral (termo em inglês, *Hyperspectral Imaging* – HSI) é uma das ferramentas que veio para revolucionar o âmbito criminal. Ela surgiu na engenharia

aeroespacial da NASA entre 1970 e 1980, migrando para a indústria civil na década de 1990. Por volta de 2010, pesquisadores mapearam a interação da luz com a hemoglobina na faixa de 415 nm, identificando a Banda de Soret. Essa banda consiste em uma absorção intensa de luz na região azul do espectro visível, entre 400 nm e 450 nm. O fenômeno óptico atua como uma assinatura característica de compostos químicos com anéis de porfirina em sua estrutura estrutural. Devido a essa propriedade, a Banda de Soret é amplamente reconhecida na literatura científica por sua forte presença em compostos heme, consolidando a hemoglobina como o principal elemento avaliado nas análises de hematologia forense (Yako, 2025).

Segundo Mariotti, Ortiz e Ferrão (2023), entre 2011 e 2012, cientistas da Universidade de Amsterdã publicaram estudos que validaram o uso de câmeras hiperspectrais na detecção de sangue em fundos pretos. A metodologia também permitia estimar o tempo de exposição da amostra de forma não destrutiva. Em meados de 2015, embora o método funcionasse bem em laboratório, ele ainda falhava em locais de crime devido a interferências de sujeira e superfícies porosas. A partir de 2017, novos estudos foram publicados para superar essas limitações ambientais.

Zulfiqar *et al.* (2025) afirmam que pesquisadores validaram a capacidade da câmera de diferenciar o sangue de compostos parecidos, como ketchup e tintas. Essa tecnologia alavancou o campo da Hematologia Forense de Identificação (HFI) ao unir duas áreas: a espectroscopia e a fotografia digital. Enquanto o olho humano e as câmeras comuns enxergam apenas três canais de cores primárias (RGB), a câmera hiperspectral captura centenas de comprimentos de onda contínuos, avançando pelas faixas do Ultravioleta (UV) e do Infravermelho Próximo (*Near Infrared Spectroscopy* – NIR).

Nesse cenário óptico, o UV contrasta fluidos biológicos, enquanto o NIR detecta sangue em superfícies escuras onde o contraste visual a olho nu é zero. Ao escanear a cena, o equipamento gera um arquivo complexo chamado Cubo de Dados Hiperspectral, no qual cada pixel contém um gráfico espectral completo. O sangue humano possui uma assinatura molecular única devido à hemoglobina que, ao interagir com a luz, cria bandas de absorção bem específicas, as Bandas de Soret e Bandas Q (Saiko *et al.*, 2025).

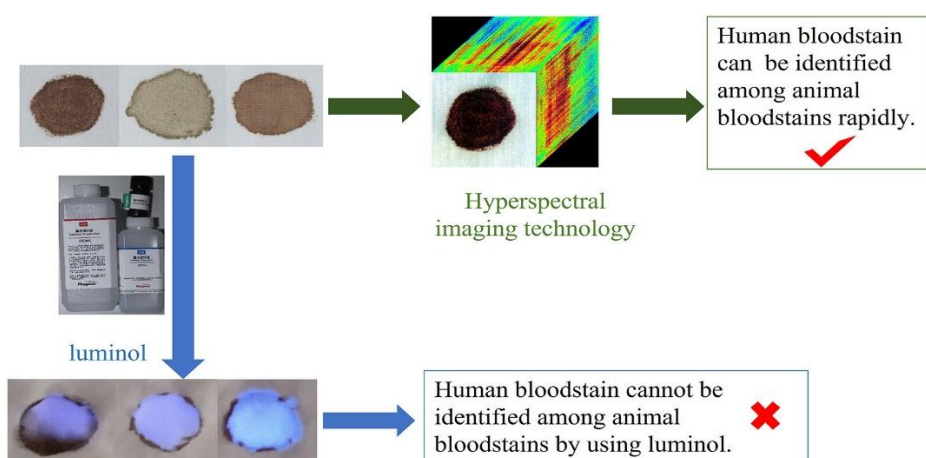
A consolidação definitiva da HSI ocorreu por volta de 2020, impulsionada pela miniaturização do hardware e pela evolução da Inteligência Artificial (IA). O avanço físico permitiu o surgimento de câmeras compactas e leves, que podem ser montadas em tripés nos locais de crime ou acopladas a drones para varreduras externas. Paralelamente, a integração de

Redes Neurais Artificiais e modelos estatísticos avançados atingiu a maturidade, fazendo com que o processamento gerasse mapas de calor automáticos em minutos (Giulietti *et al.*, 2023).

O *software* de IA acoplado à câmera analisa os gráficos de cada pixel em tempo real, isolando o sangue de qualquer outro composto químico e solucionando o problema dos falsos positivos. Manchas de ferrugem, alvejante ou extrato de tomate são completamente ignoradas pelo sistema por possuírem estruturas moleculares totalmente diferentes do sangue. Assim, um mapa colorido é criado no computador do perito, destacando em cores fluorescentes digitais apenas o sangue real (como é demonstrado na Figura 1) e ignorando o resto (Yang *et al.*, 2024).

Yang *et al.* (2024) apontam que além da identificação local, a hemoglobina varia entre as espécies em sua estrutura de aminoácidos e arranjo globular, permitindo a diferenciação forense interespecíes, visto na Figura 1. Essa distinção ocorre porque os sensores hiperspectrais detectam variações milimétricas nos gráficos de absorbância de luz visível e NIR. O processo utiliza algoritmos de *Machine Learning* treinados para o reconhecimento automatizado de padrões biológicos.

**Figura 1:** Representação da diferença entre Imagem Hiperspectral e Luminol em manchas de sangue humano em meio ao sangue animal.



Fonte: Zhang *et al.* (2023).

O *Machine Learning*, como subcampo da IA, automatiza a análise de dados por modelos matemáticos avançados. Na perícia, essa tecnologia substitui a interpretação empírica humana por um processo computacional dividido em três etapas estruturadas: o *input* (entrada) de dados (treinamento), onde o *software* é alimentado com milhares de espectros de luz de sangue e contaminantes para criar uma robusta base de dados comparativa; o reconhecimento de padrões, em que o algoritmo isola métricas matemáticas imperceptíveis ao olho humano, como variações

microscópicas nas curvas de absorção da hemoglobina; por fim, o *output* (saída) de predição, ao processar dados de uma cena de crime em tempo real, o sistema confronta o vestígio diretamente com o aprendizado prévio e projeta o resultado exato na tela (Li *et al.*, 2022).

De acordo com Książek *et al.* (2020) esse cruzamento de dados gera diagnósticos preditivos imediatos na tela, mitigando a necessidade de intervenção humana na análise. Dessa forma, ao confrontar dados coletados em cenas de crime com o banco de dados previamente maturado, o algoritmo realiza classificações automatizadas com alta precisão, mitigando a necessidade de intervenção humana direta na interpretação de vestígios ópticos. Na literatura forense recente, os modelos estatísticos mais comuns para essa tarefa são o SVM (termo em inglês, *Support Vector Machine*) e o ELM (termo em inglês, *Extreme Learning Machine*).

O segundo grande avanço metodológico observado na cena de crime nos últimos seis anos consiste na datação de manchas de sangue através da técnica de espectroscopia portátil. Este avanço fundamenta-se em um princípio biológico previsível: ao perder o contato com o sistema circulatório humano e se expor ao ambiente externo, o sangue inicia um processo contínuo de degradação química, impulsionado pela desidratação e pela presença do oxigênio atmosférico. Essa transformação molecular da hemoglobina ocorre de forma sucessiva, dividida em estágios cronológicos que servem como marcadores temporais cruciais para a análise forense do vestígio (Zhang *et al.*, 2023).

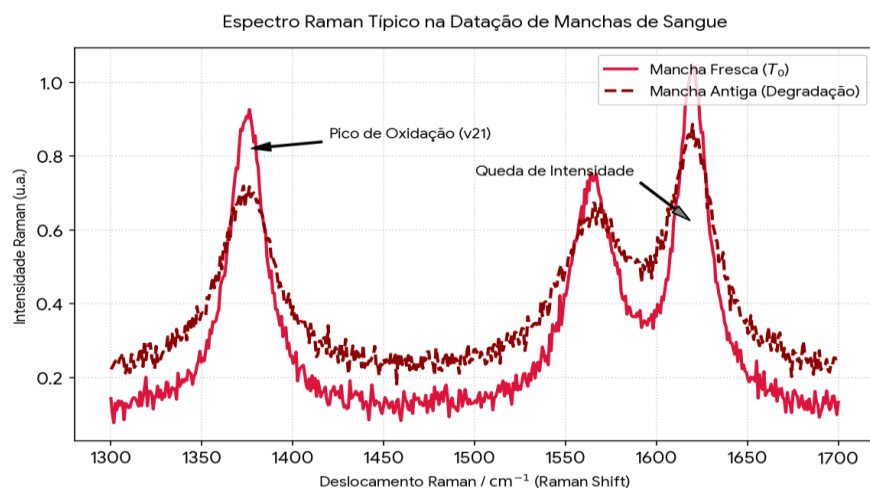
19

A primeira fase molecular corresponde à presença de oxi-hemoglobina, que é o sangue fresco, recém-saído do corpo humano, caracterizado por uma coloração vermelha viva decorrente da saturação de oxigênio. A segunda fase molecular ocorre com o decorrer das horas, período em que o ferro presente no grupo heme sofre um processo de oxidação compulsória, alterando a estrutura original e convertendo o composto em meta-hemoglobina, o que torna a mancha visivelmente mais escura. A terceira fase molecular, por sua vez, manifesta-se em estágios avançados que demandam dias ou semanas, quando a proteína continua o seu processo de desnaturação até se transformar em hemocromo, um composto altamente estável que sinaliza o envelhecimento tardio da amostra (Marrone *et al.*, 2021).

Segundo Almeahadi e Lednev (2025) para identificar tais fases sem comprometer a evidência, os peritos criminais utilizam atualmente equipamentos portáteis de alta tecnologia, semelhantes em dimensões a uma lanterna, baseados em espectroscopia Raman (gráfico presente na Figura 2) ou em infravermelho por transformação de Fourier (gráfico presente na Figura 3). Durante a análise no local do crime, o operador aponta o feixe de laser do dispositivo

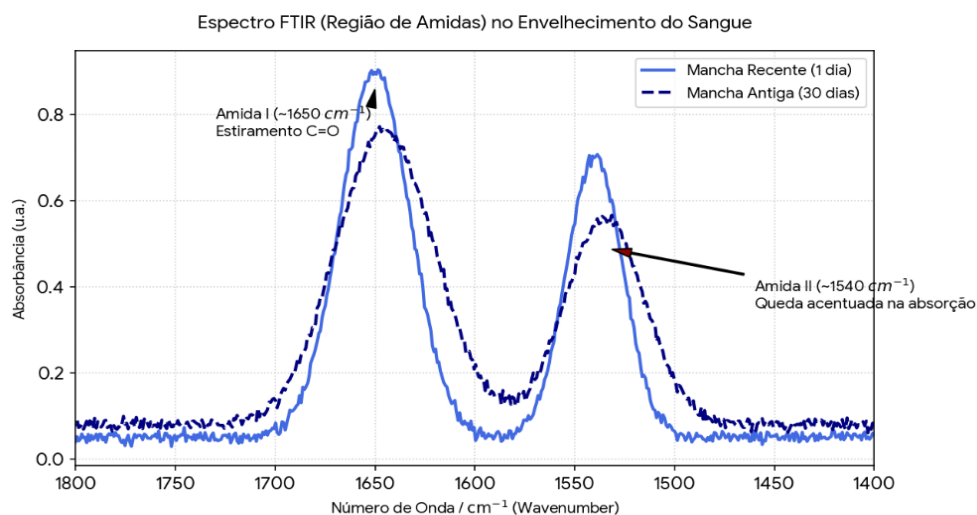
diretamente para a mancha biológica depositada em superfícies como paredes ou pisos. Esse laser interage de maneira imediata com as moléculas de hemoglobina presentes na amostra, efetuando uma leitura óptica precisa e gerando um gráfico espectral na tela sem queimar, contaminar ou destruir o material analisado.

**Figura 2:** Representação Gráfica do Espectro Raman.



**Fonte:** Lednev *et al.* (2020).

**Figura 3:** Representação Gráfica do Espectro FTIR.



**Fonte:** Zhang *et al.* (2023).

Na formulação de Zhang *et al.* (2023) o gráfico obtido reflete a proporção exata entre a oxi-hemoglobina, a meta-hemoglobina e o hemocromo contidos naquele vestígio específico. Na sequência, um software integrado ao equipamento, alimentado por inteligência artificial, cruza esses dados espectrais com as variáveis ambientais coletadas no local, a exemplo da temperatura média e da umidade relativa do ar. A partir desse cruzamento, o algoritmo calcula

rigorosamente a curva de decaimento químico da substância, fornecendo à equipe de investigação uma estimativa matemática confiável sobre o intervalo de tempo decorrido desde o momento em que o sangue foi vertido.

Embora a aplicação prática em campo seja recente, o embasamento científico dessa tecnologia remonta ao início dos anos 2000, período em que as pesquisas fundamentais sobre o envelhecimento da hemoglobina ganharam força na comunidade acadêmica internacional. Os primeiros artigos científicos que comprovavam a viabilidade matemática de mensurar a oxidação sanguínea por meio da luz foram publicados entre os anos de 2002 e 2005. Contudo, naquela época, as limitações metodológicas exigiam o uso de espectrômetros de bancada massivos e a extração química do sangue, o que invariavelmente resultava na destruição parcial ou total dos vestígios biológicos coletados (Das *et al.*, 2020).

Como afirmado por Seki *et al.* (2024) a transição definitiva para a rotina pericial ocorreu entre 2019 e 2021, impulsionada pela convergência da miniaturização dos espectrômetros com o desenvolvimento de algoritmos de aprendizado de máquina treinados sob diferentes condições climáticas. Dessa forma, enquanto o conceito teórico foi consolidado há duas décadas, a aplicação prática, automatizada e estritamente não destrutiva no local do crime estabeleceu-se como um dos principais marcos da hematologia forense identificadora a partir do ano de 2020.

### 3.5 Gestão de Dados e Cadeia de Custódia

Após as análises em local de crime e laboratório, um documento é enviado para o solicitante dentro dos prazos legais exigidos. O laboratório deve guardar o restante de amostras e extratos de DNA por um determinado período, permitindo a realização de contraperícias ou novas análises, caso avanços tecnológicos cheguem aos laboratórios envolvidos. Os dados sensíveis são arquivados de forma confidencial. O procedimento é assegurado pela Lei Anticrime (Lei 13.964/2019), sendo citado entre os artigos 158-A a 158-F no Código de Processo Penal (PCI-ES, 2024).

De acordo com Machado e Souza (2025) a cadeia de custódia do sangue registra de forma cronológica toda a vida útil da evidência física, iniciando com o reconhecimento e isolamento do local do crime para evitar contaminações. Após a fixação por fotos, o sangue líquido ou seco é coletado com swabs e acondicionado em embalagens apropriadas. O material segue sob refrigeração até o laboratório, onde passa por conferência de lacres e registros de entrada. Em

seguida, ocorrem as análises forenses de triagem e extração de DNA. Por fim, o excedente é armazenado em freezers até o descarte por ordem judicial.

A gestão de dados forenses transforma achados biológicos em relatórios digitais seguros e auditáveis por meio de sistemas LIMS - Laboratory Information Management Systems (termo em português, Sistema de Gerenciamento de Informações de Laboratório), que controlam o fluxo de trabalho e garantem a rastreabilidade total de quem manuseou a amostra. Para proteger a privacidade, os perfis de DNA são criptografados e integrados ao banco de dados CODIS - *Combined DNA Index System* (em português, Sistema Combinado de Índices de DNA) para cruzamento criminal. Contudo, o processo enfrenta desafios críticos, como a degradação rápida do sangue por calor e umidade, o risco de contaminação cruzada pelo uso incorreto de luvas e a quebra da cadeia de custódia por falha de assinaturas, o que pode anular judicialmente toda a evidência (Calmon, 2022).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a análise e exposição de métodos melhores e revolucionários no setor de hematologia forense de identificação, nota-se a importância de conhecer essas atualizações para a elucidação de crimes.

Achados importantes, como o uso de Imagens Hiperespectrais com IA e a Datação de Manchas de Sangue, tornam-se ferramentas indispensáveis no contexto da criminalística moderna, facilitando a vida e a rotina dos peritos. É evidente que esses avanços revolucionaram a hematologia forense ao oferecer benefícios como a preservação completa dos vestígios sanguíneos, a eliminação de reagentes químicos que possam diluir ou alterar a física do sangue encontrado, alta tecnologia que garante a integridade das amostras para análises laboratoriais posteriores, poupar o tempo de análise dos peritos e evitar falsos positivos que comprometam o andamento da investigação.

Por não ser um tema em alta ou não haver muitas pessoas envolvidas na área de pesquisa que possam trazer novos resultados, não há tantos registros metodológicos que permitam uma pesquisa fácil em vastos arquivos informativos. Mas, ainda assim, é possível encontrar documentos com informações suficientes para que as pessoas saibam que existe um grupo de investigadores, pesquisadores e especialistas que têm o foco de fazer esse campo forense progredir cada vez mais.

Diante do cenário atual, é promissor que mais pessoas da área de hematologia forense de identificação estejam interessadas em publicar e expor pesquisas que envolvam qualquer ferramenta nova que venha colaborar para o avanço na criminalística, para assim propagar informações, atrair interessados e até gerar novas ideias.

Contudo, o avanço científico e tecnológico da criminalística não pode depender exclusivamente do esforço acadêmico. Torna-se imperativo que o Poder Público possa assumir seu papel central por meio da formulação de políticas públicas estruturadas e de investimentos financeiros contínuos na área de segurança e perícia forense. Somente com o aporte governamental direcionado à modernização de laboratórios, compra de insumos e capacitação técnica será possível consolidar essas novas ferramentas na rotina investigativa, fortalecendo a justiça estatal e garantindo a aplicabilidade prática da ciência em benefício da sociedade.

## REFERÊNCIAS

AL-ALIMI, Dalal; AL-QANESS, Mohammed A. A. Enhancing forensic blood detection using hyperspectral imaging and advanced preprocessing techniques. **Talanta**, Amsterdã, v. 283, p. 127097, fev. 2025.

ALMEHMADI, L.; LEDNEV, I. K. A New Way to Detect and Identify Forensic Bloodstains. **Scientia Global**, Bristol, 9 abr. 2025.

ALVES, Lucilene Quintiliano; BOAVENTURA, Rosana Carneiro. A importância das manchas de sangue em local de crime: aspectos periciais. **Revista Eletrônica Anais de Teologia e Ciências de Religião (REASE)**, São Paulo, v. 7, n. 7, p. 1-15, 2021.

BLUESTAR FORENSIC. **BLUESTAR® FORENSIC Tablets: instructions for use**. Monte-Carlo: Bluestar Forensic, [202-?].

BOSSERS, Lydia C. A. M.; ROUX, Claude; BELL, Michael; MCDONAGH, Andrew M. Methods for the enhancement of fingermarks in blood. **Forensic Science International**, Amsterdã, v. 210, n. 1-3, p. 1-11, jul. 2011.

BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. **POPs Perícia Criminal 2024: toxicologia forense**. Brasília, DF: MJSP/SENASP, v. 10, 2024.

CHEMELLO, Emiliano. **Testes de orientação para caracterização de sangue em locais de crime: o declínio do piramidon**. Caxias do Sul: Química Virtual, 2026.

COSTA, A. S. *et al.* Validação interna de fitas imunocromatográficas para identificação de sangue humano em amostras forenses. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 503-518, 2020.

DAS, T. *et al.* Analytical approaches for bloodstain aging by vibrational spectroscopy: Current trends and future perspectives. **Microchemical Journal**, Amsterdã, v. 158, p. 105278, nov. 2020.

DE VITTORI, E. *et al.* Forensic application of a rapid one-step tetramethylbenzidine-based test for the presumptive detection of blood traces at the crime scene and in the laboratory. **Forensic Chemistry**, Amsterdã, v. 2, p. 110-117, dez. 2016.

DOMINICI, Ashley. **DNA Degradation: the effect of Bluestar® Forensic on recovered DNA in various storage conditions**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências Forenses) – University of Illinois Chicago, Chicago, 2023.

ESPÍRITO SANTO (Estado). Polícia Científica. **Anuário Estadual da Segurança Pública: edição 2024**. Vitória: PCI-ES, 2024.

HE, Yunan *et al.* Bloodstain Identification Based on Visible/Near-Infrared Hyperspectral Imaging With Convolutional Neural Network. **IEEE Access**, Piscataway, v. 10, p. 83877-83886, ago. 2022

HORTA, Denise. **Laudos Periciais: guia de redação e interpretação forense**. 2. ed. Belo Horizonte: Del Rey, 2020.

JAREMKO, S. Detection of sensitivity and vestigiality of presumptive tests for swabbed blood stains. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, Nova York, v. 20, n. 2, p. 245-252, jun. 2024.

JOBIM, Luiz Fernando; SILVA, Luiz Antonio. **DNA Forense**. 2. ed. Porto Alegre: Livraria do Advogado, 2021.

JONSSON, M. Evaluation of Lumiscene. **IABPA News**, Henderson, v. 33, n. 2, p. 12-18, 2017.

KŚIAŻEK, Karolina *et al.* Blood stain classification with hyperspectral imaging and deep neural networks. **Sensors**, Basel, v. 20, n. 22, p. 6666-6680, nov. 2020.

LI, B. *et al.* Bloodstain identification based on visible/near-infrared hyperspectral imaging and 3D convolutional neural network. **IEEE Access**, Piscataway, v. 10, p. 83877-83886, ago. 2022.

LOWIS, T. *et al.* Determining the sensitivity and reliability of Hemascein. **Journal of Forensic Identification**, Hollywood, v. 62, n. 3, p. 204-214, maio/jun. 2012.

LOVIG, J. *et al.* Using bluestar forensic to detect latent bloodstains under coats of paint. **Journal of Forensic Identification**, Hollywood, v. 68, n. 1, p. 55-66, jan. 2018.

MARIOTTI, Kristiane de Cássia; ORTIZ, Rafael Scorsatto; FERRÃO, Marco Flôres. Hyperspectral imaging in forensic science: An overview of major application areas. **Science & Justice**, Amsterdã, v. 63, n. 3, p. 387-395, maio 2023.

MISTEK-MORABITO, Ewelina; LEDNEV, Igor K. Discrimination between human and animal blood by attenuated total reflection Fourier transform-infrared spectroscopy. **Communications Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2020.

RONCATO, Paulo Aurélio; SERRA, Mônica da Costa; FERNANDES, Clemente Maia S. Forensic reconstructive hematology: analysis and reflections on its development and applications in Brazilian forensic cases. *In: Development and its applications in scientific knowledge*. São José dos Pinhais: Seven Editora, 2023.

SAIKO, Gennadi *et al.* Absorption, scattering, and refractive index of blood and its components: a review. **Frontiers in Photonics**, Lausanne, v. 6, p. 1-18, ago. 2025.

SEKI, T. *et al.* Establishment of a random forest regression model to estimate the age of bloodstains based on temporal colorimetric analysis. **Legal Medicine**, Tóquio, v. 69, p. 102343, jul. 2024.

SOARES, Odilon José Claudino *et al.* Study on chemiluminescence techniques used in the identification of blood traces in crime scenes. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 17, p. e126111738997, 2022.

STROUD, Angela *et al.* A comprehensive study into false positive rates for 'other' biological samples using common presumptive testing methods. **Science & Justice**, Amsterdã, v. 63, n. 3, p. 414-420, maio 2023.

TOMBOC, Ricardo. **The Fluorescein Method of Latent Blood Detection**. Crime Scene Investigator Network, 2011.

YAKO, Motoki. Hyperspectral imaging: history and prospects. **Optical Review**, Tóquio, v. 32, n. 6, p. 830-842, nov. 2025.

YANG, Qifu *et al.* Application of hyperspectral imaging combined with extreme learning machine algorithm in bloodstain species identification. **Applied Spectroscopy**, Los Angeles, v. 78, n. 6, p. 642-651, jun. 2024.

ZARACHO, Cristiana Bechara. Hematologia forense. In: VELHO, Jesus Antonio; GEISER, Gustavo Caminoto; ESPINDULA, Alberi (org.). **Ciências Forenses: uma introdução às principais áreas da criminalística moderna**. 3. ed. Campinas: Millennium Editora, 2017. p. 155-180.

25

ZHANG, R. *et al.* Age estimation of bloodstains based on Raman spectroscopy and chemometrics. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Amsterdã, v. 289, p. 122198, abr. 2023.

ZULFIQAR, M. *et al.* Enhancing forensic blood detection using hyperspectral imaging and machine learning. **Talanta**, Amsterdã, v. 282, p. 126-138, fev. 2025.