

Possibilidade de uso de fitas de uroanálise em análises forenses

E.M. Aquino ^{a,*}, A.P.V. D'Ávila ^a, A.A.L. Hamada ^a, M.P.O. Valadares ^a, M.L. Medeiros ^{b,c},
P.R.H. Moreno ^d

^a Instituto de Criminalística, Superintendência da Polícia Técnico-Científica de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil

^b Universidade Paulista, São Paulo, Brasil

^c Faculdade de Medicina do ABC, Santo André (SP), Brasil

^d Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil

* Endereço de e-mail para correspondência: elvis.medeiros@gmail.com. Tel.: +55-11-3811-7189

Recebido em 03/08/2011; Revisado em 18/09/2012; Aceito em 31/07/2014

Resumo

Fitas de uroanálise têm sido amplamente utilizadas na avaliação de parâmetros físico-químicos da urina devido ao baixo custo, rapidez, simplicidade do método e, sobretudo, à sua versatilidade, uma vez que as mesmas possibilitam a análise preliminar simultânea de diferentes parâmetros, como pH, presença de nitrito e de hemoglobina em um tempo de análise de cerca de 2 minutos. Com base nessas propriedades, levantou-se a possibilidade de sua utilização em análises forenses, tanto em campo como em laboratório, com destaque para a pesquisa preliminar de substâncias hemáticas comumente presentes em cenas de crime. O trabalho discute ainda a possível utilização das fitas na pesquisa de nitrito para a determinação de recência de disparo de arma de fogo, na detecção de acetona utilizada para o refino de entorpecentes, bem como na determinação de pH de soluções de lavagem de gases, fator importante em perícias de engenharia forense. Em testes preliminares, que foram o objetivo deste trabalho, verificou-se a possibilidade real de uso das fitas para a triagem de amostras suspeitas de conterem sangue. Além disso, os resultados para a pesquisa preliminar de acetona e nitrito, assim como a determinação de pH mostraram-se potencialmente úteis, dentro do escopo forense. Diante do exposto, torna-se razoável a conclusão de que as fitas de uroanálise oferecem a possibilidade de um teste de triagem de fácil padronização e rastreabilidade de resultados, o que vai de encontro às atuais tendências de normatização do trabalho pericial.

Palavras-Chave: Urofitas; Criminalística; Substância Hematóide.

Abstract

Urinalysis strips have been widely used to evaluate physical and chemical parameters of urine due to low cost, rapidity, simplicity of the method and, above all, its versatility, since this preliminary test allows simultaneous analysis of different parameters such as pH, presence of nitrite and hemoglobin in about 2 minutes. Based on these properties, raised the possibility of their use in forensic analysis, in field and laboratory, with emphasis on the preliminary research of hematic substances commonly present at crime scenes. The work also discusses the possibility of using urinalysis strip to search for the determination of nitrite recency firearm shooting, detection of acetone used for the refining of seizure drugs, as well as pH determination of gas washing solutions, important factor in forensic engineering. Preliminary tests, objective of this study, confirm the possibility to use the urinalysis strips for screening samples suspected of containing blood. Moreover, the results for acetone and nitrite, as well as the determination of pH, show to be potentially useful in forensics scope. So, it is reasonable to conclude that urinalysis strips offer the possibility of a screening test of easy standardization and traceability of the results, which meets the current trends of standardization of forensic work.

Keywords: Reagent Strips; Criminalistics; Bloodlike Substances.

1. INTRODUÇÃO

Fitas de uroanálise, também chamadas de fitas reagentes ou urofitas, são compostas por tiras de material plástico sobre o qual são depositados, de forma separada,

papéis contendo reagentes para a realização de análises. O contato entre tais reagentes e os possíveis analitos e/ou exposição a amostras produz mudança de cor, cuja intensidade, em alguns casos, pode ser associada não apenas à presença do analito (qualitativo) como também à

provável quantidade deste na amostra (semi-quantitativo). Em geral tais fitas possibilitam a determinação de dez parâmetros simultaneamente, sendo o tempo de análise de 60 a 120 s [1,2], conforme ilustrado na Fig. 1.

As fitas de uroanálise são versáteis, possuem baixo

custo (cerca de R\$ 0,25/teste ou USD 0,17/teste), são fáceis de manipular (não requerem a adição de reagentes à amostra e não necessitam de condições especiais de armazenamento como refrigeração, por exemplo) e de interpretar tanto de forma visual como automatizada [2,3].

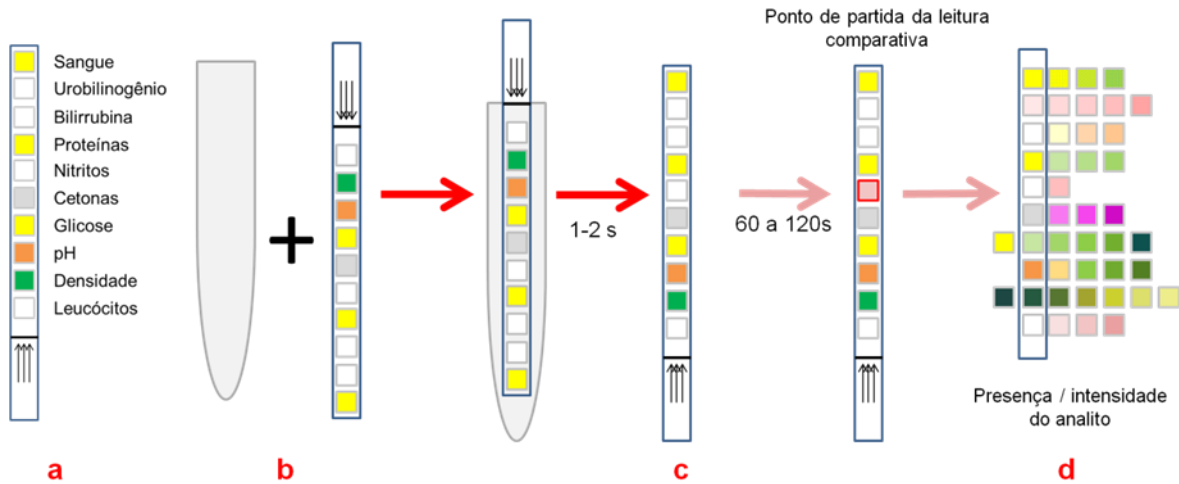


Figura 1. A fita de uroanálise e seu uso: **a)** representação esquemática da fita de uroanálise; **b)** análise de amostra: a fita é adicionada à amostra permanecendo em contato com esta por um período entre 1 e 2 s; **c e d)** após período de 60 a 120 s, as cores de cada um dos campos da fita são comparadas com uma escala colorida que se encontra no corpo da embalagem das fitas (exemplo: reação positiva no campo referente ao nitrito).

Outra vantagem reside no fato que as urofitas já possuem todos os reagentes necessários aos testes para os quais são produzidas, logo, não há a possibilidade de erros de preparo de reagentes que podem ocorrer em outros métodos de análises colorimétricas. Além disso, como a data de validade é atribuída à fita e não a um ou mais campos específicos, o controle de qualidade e a rastreabilidade do método são simplificados.

Tais atributos vão ao encontro da realidade do trabalho pericial, como a necessidade de respostas

rápidas, ainda que preliminares, que possam ser utilizadas como orientação para o trabalho do perito tanto de campo quanto de laboratório.

Assim sendo, foi idealizada a adaptação do uso das fitas de uroanálise com o propósito de oferecer aos peritos uma possibilidade de método rápido para a análise preliminar de sangue - em cenas de crime por exemplo, acetona – utilizada no refino de entorpecentes, nitrito – recentidade de disparo de arma de fogo e determinação do pH – resíduos diversos, como mostra a Fig. 2.

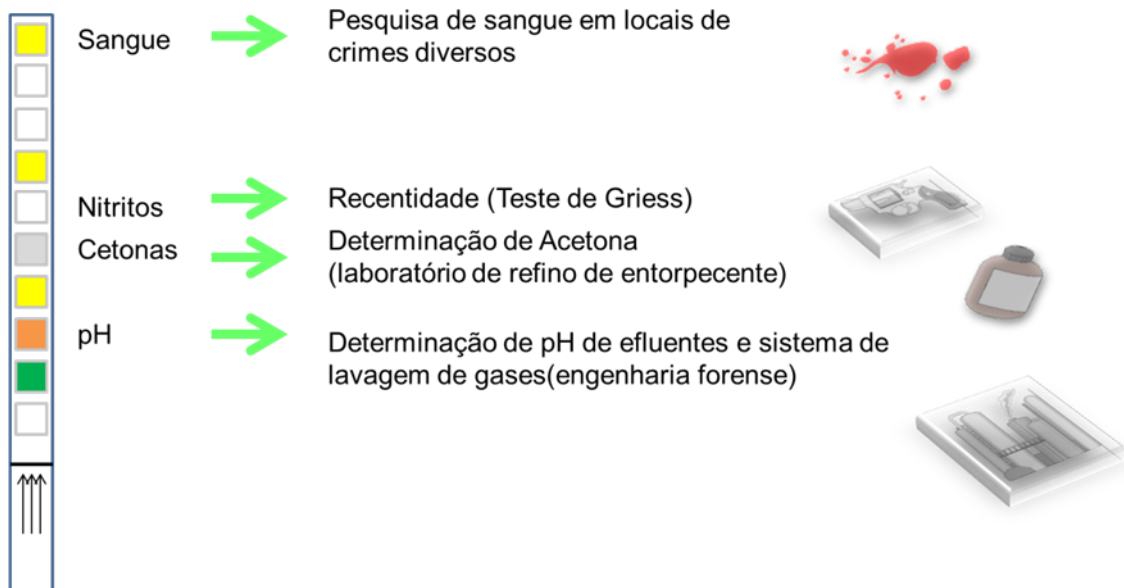


Figura 2. Alguns campos da fita de uroanálise e suas que apresentam potencial aplicação na área pericial.

Cabe ressaltar que a possibilidade de detecção de sangue por meio de urofitas já havia sido observada no sistema Hemastix® (Roche), que empregava fitas dotadas de apenas um campo reativo destinado única e exclusivamente à detecção de sangue. Nesse sistema, a substância de aspecto hematóide era exposta ao campo reativo da fita, previamente umedecido, sendo que a mudança de cor era indicativa da presença de sangue [4,5].

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como propósito apresentar as potencialidades do uso de fitas de uroanálise em ensaios preliminares de interesse forense.

Salienta-se que, por se tratar de uma pesquisa exploratória e inicial, tal trabalho não pretende de forma alguma esgotar o tema, tampouco apontar para qualquer tipo de validação metodológica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Segue abaixo a descrição das amostras empregadas nos diferentes ensaios.

pH: foram utilizados como padrão ácido e básico - HCl 0,1 mol/L (Synth) e NH₄OH (Synth) (diluição 1:10 v/v a partir de produto concentrado).

Nitrito: alíquota de amostra oriunda da lavagem do interior de cano de revólver que sabidamente havia sido disparado, sendo que outra alíquota da mesma amostra foi submetida ao teste de Griess, realizado no Núcleo de Balística do Instituto de Criminalística / SP (IC/SP).

Acetona: acetona (Synth grau P.A.) diluída em soro fisiológico (diluição 1:15 v/v a partir de produto concentrado).

Análise de sangue: controle positivo sangue de carneiro desfibrinado (New Prov) e diferentes tipos de amostras que pudessem ser confundidas com sangue como, por exemplo, molhos diversos. Além disso, foram empregados materiais que potencialmente poderiam apresentar resultados falsos positivos, tais como alvejantes, rabanete e cerveja contendo levedura (tipo Weiss), pela sua capacidade oxidante ou atividade de pseudo-peroxidase. Tanto o sangue como os demais materiais foram testados em triplicata e em diferentes concentrações (amostras brutas e nas diluições: 1:100 e 1:10.000 v/v em soro fisiológico).

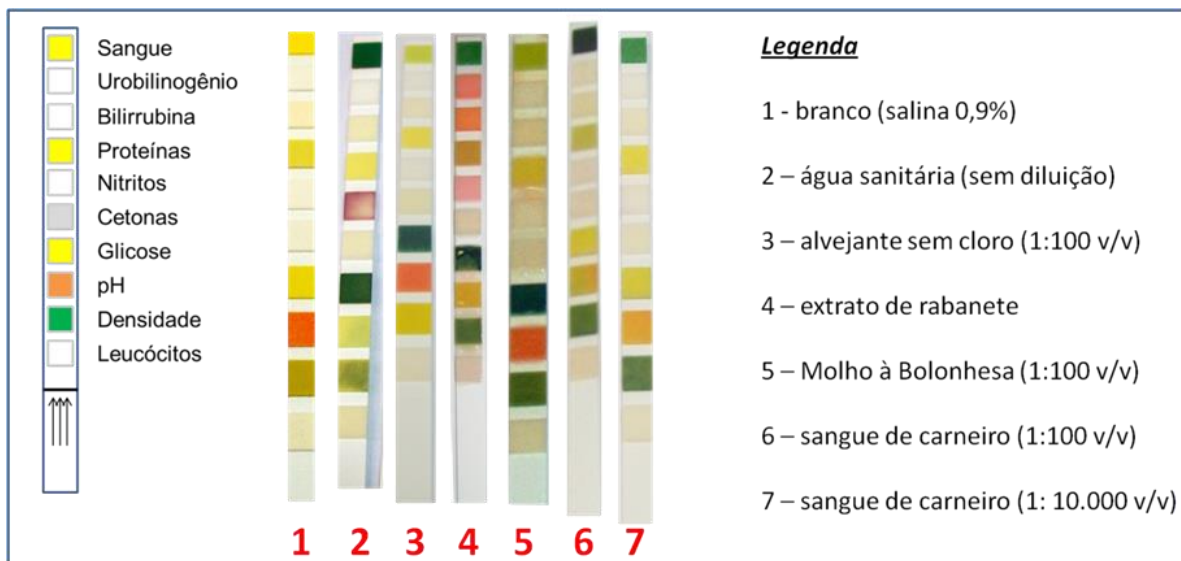


Figura 3. Fotografia de fitas expostas a diferentes amostras que apresentaram resultado presuntivo positivo para sangue: o desenho da esquerda representa a fita de uroanálise além da posição de cada um dos testes possíveis com a fita; ao centro: fotografia de sete fitas submetidas a diferentes situações, sendo a primeira delas o controle negativo, ou branco (1); as demais fitas foram expostas a elementos que: ou podem gerar resultados presuntivos falsos positivos por atividade oxidante ou pseudo peroxidase (2, 3 e 4) ou por apresentarem aspecto hemático (5), em comparação com controles positivos (6 e 7); entre parênteses são mostradas as diluições (proporção volume/volume) de cada um dos tipos de amostras testadas; Verificar que, sem diluição da amostra ou com pouca diluição (1:100, v/v), a fita apresenta resultado falso positivo para água sanitária, alvejante sem cloro, extrato de rabanete e molho à bolonhesa (mudança de cor do campo de sangue de amarelo para verde). Observar ainda que no caso da água sanitária, verifica-se reação positiva para o campo de detecção presuntiva de nitrito e de glicose; já o alvejante sem cloro, na diluição 1:100 (v/v) apresenta resultado presuntivo positivo para glicose, o mesmo sendo observado para o extrato de rabanete sem diluição e para o molho à bolonhesa. Nos controles positivos diluídos, não foi observada tal reação.

A metodologia utilizada foi a mesma descrita pelo fabricante para a análise de urina, isto é, imersão da fita na amostra por um período de 1 a 2 s, remoção do excesso

de amostra da fita, com o uso de papel absorvente e leitura dos campos dentro de um período de 60 a 120 s [1].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

pH: Verificou-se discriminação de amostras de caráter ácido daquelas de caráter básico, o que faz do teste uma alternativa dentro da engenharia forense para a determinação do pH de soluções de lavagem de gases e ainda de efluentes oriundos de indústrias. Outra possibilidade do uso deste campo reativo é a pesquisa do

pH de fluidos biológicos, uma vez que este parâmetro pode ajudar na identificação da origem do fluido (ex.: pH baixo em amostras de conteúdo estomacal).

Nitrito: Tal como o reagente de Griess utilizado no IC/SP, a urofita mostrou-se positiva para nitrito proveniente de disparo de arma de fogo, sendo, portanto uma candidata à realização de ensaio de recentidade de disparo de arma de fogo.

Tabela 1. Resultados do ensaio para a pesquisa de interferentes na determinação de sangue por meio de urofita utilizando diluição de 1:10.000 v/v em soro fisiológico.

			Sangue	Urobilinogênio	Bilirrubina	Proteínas	Nitritos	Cetonas	Glicose	pH	Densidade	Leucócitos
Controle	Negativo	Soro Fisiológico	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-
	Positivo	Sangue de Carneiro	+	-	-	-	-	-	-	5	1	-
Alimentos, Temperos & Bebidas	Molhos	Pimenta	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-
		Shoyu	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-
		Inglês	-	-	-	-	-	-	50	5	1	-
		Barbecue	-	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-
		Tomate	-	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-
		Bolonhesa	+	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-
		Madeira	-	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-
	Refrigerantes	Cola	-	-	-	-	-	-	50	5	1	-
		Uva	-	-	-	-	-	-	50	5	1	-
		Guaraná	-	-	-	-	-	-	150	5	1	-
	Cervejas	Malzebier	-	-	-	-	-	-	150	5	1	-
		Weiss	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-
		Escura	-	-	-	-	-	-	50	5	1	-
	Geléias	Uva	-	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-
Morango		-	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-	
Goiaba		-	-	-	-	-	-	>1000	5	1	-	
Outros	Achocolatado	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-	
	Sardinha em molho de tomate	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-	
	Rabanete (extrato)	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-	
	Suco de morango	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-	
	Caldo de carne	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-	
Produtos de limpeza	Alvejante	Sem cloro	-	-	-	-	-	-	50	5	1	-
		Com cloro	-	-	-	-	-	-	-	5	1	-
Outros		Amostra de terra	-	-	-	-	-	-	5	1	-	

Observação: Os símbolos: “+” e “-”, bem como os números observados na tabela representam os resultados qualitativos e/ou semi-quantitativos obtidos pela comparação entre as cores produzidas por cada amostra analisada e o padrão cromático fornecido pelo fabricante das urofitas. Resultados quantitativos: média aritmética das triplicatas; resultados qualitativos: observou-se concordância entre as triplicatas em todos os casos

Acetona: A urofita foi capaz de detectar acetona na diluição empregada, demonstrando a utilidade da mesma como teste presuntivo da presença de tal substância em locais possivelmente relacionados ao refino de entorpecentes.

Análise de Sangue: Uma vez que a cor do sangue poderia interferir na leitura e interpretação dos resultados das análises, diferentes testes foram feitos em diferentes diluições de sangue de carneiro.

Verificou-se que a partir da diluição 1:100 (v/v) a cor

do sangue não causaria influência na no resultado do exame. As amostras de sangue diluído apresentaram resultados presuntivos positivos. Materiais como cerveja do tipo Wiess, alvejantes, rabanete além do molho à bolonhesa, sem diluição ou em diluição de 1:100 (v/v), apresentaram resultado positivo para sangue (Fig. 3).

Contudo, verificou-se que ao se diluir as amostras (fator de diluição 1: 10.000 v/v) que antes apresentavam resultados positivos, apenas uma delas, molho à bolonhesa, continuava a exibir resultados presuntivos falsos positivos. Ainda assim, tal resultado poderia ser diferenciado em relação a um resultado genuinamente positivo, observando-se o campo destinado à detecção de glicose, que se mostrou negativo para amostras de sangue e positivo para amostras de molho à bolonhesa conforme Tab. 1.

Os resultados apresentados na Tab. 1 sugerem que o campo da fita de uroanálise destinado à pesquisa de sangue, desde que tomados os devidos cuidados (diluição da amostra e análise conjunta com o campo destinado à pesquisa de glicose), poderia ser utilizado para a pesquisa deste tipo de analito em manchas encontradas em cenas de crime, por exemplo.

Uma vez que os testes comumente empregados para a pesquisa de sangue tais como: Luminol e Kastle Meyer e a própria fita de uroanálise são baseados na atividade pseudo peroxidase da hemoglobina [3-5], é razoável inferir que os mesmos interferentes observados para a fita, possam também interferir nos métodos acima relatados.

Neste ponto, a fita se sobressairia, uma vez que a reação entre a amostra suspeita e seus demais campos, tal como observado para o caso do molho à bolonhesa (Fig. 3 e Tab. 1), poderia afastar resultados falso positivos.

Por fim, ressalta-se que devido à sensibilidade do teste para a determinação presuntiva de sangue, é necessária apenas uma pequena alíquota da amostra, mesmo no caso de amostras diluídas, preservando seu excedente para que seja possível traçar o perfil genético da mesma, em análises posteriores se necessárias.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com os ensaios tratados neste trabalho permitem a afirmação de que as fitas de uroanálise são uma alternativa em potencial para análises forenses já que apresentam baixo custo, fácil execução e interpretação e rastreabilidade para a constatação

preliminar de sangue, nitrito, acetona e de pH, o que as torna uma ferramenta em potencial para diferentes campos da área pericial tanto do ponto de vista laboratorial como ainda em análises de campo.

Em relação ao teste presuntivo para sangue, a fita mostrou-se uma ferramenta interessante, uma vez que, com simples procedimento de diluição, foi capaz de discriminar o controle positivo dos demais interferentes.

Tal fato pode servir tanto como ponto de partida para análise de manchas de aspecto hemático, como ainda como complemento para análise de manchas latentes por meio de luzes forenses e, caso comprovada em testes futuros a ausência de interferência, também como complemento de análises feitas com luminol.

Obviamente, pelo limitado número de ensaios realizados, não se pretendeu validar qualquer um dos testes mencionados neste trabalho, mas sim, em ensaios rápidos e com poucas replicatas, apresentar a potencialidade da ferramenta.

Uma vez difundida e colocada à prova em situações reais, objetivo primeiro deste trabalho, tal teste poderá ser objeto de novos trabalhos, incluindo aqueles relacionados à verificação de potenciais interferentes e à validação de método.

Além disso, por se tratar de técnica ainda pouco explorada, estudos futuros poderão revelar a sua utilidade em outros tipos de análise forense, assim como comparar suas qualidades e eventuais deficiências, em relação a testes preliminares atualmente em voga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PRODIMOL, Bula de instruções de Urofitá 10 DL; edição 02/2008 A35490.
- [2] STRASINGER, S.K.; DI LORENZO, M.S. Urinalysis and body fluids, 5th ed. F. A. Davis Company, Philadelphia, p. 53-77, 2008.
- [3] BEVEL, T.; GARDNER, R.M. Bloodstain pattern analysis with an introduction to crime scene reconstruction; 3rd ed.; CRC Press; Boca Raton; p.275-297, 2008.
- [4] STUART, H.J.; KISH, P.E.; SUTTON, P.S. Principles of bloodstain pattern analysis: theory and practice; CRC Press; Boca Raton, p 355-358, 2005.
- [5] VERNON, J.G. Practical homicide investigation: tactics, procedures, and forensic techniques, 4th ed., CRC Press, Boca Raton, p. 574-586, 2006.