Manchas de sangue

165/1 FNP

Trabalho do Laboratório de Anatomia Patológica e Medicina Legal
da Faculdade de Medicina do Porto

CARLOS DE CASTRO HENRIQUES

Manchas de sangue

(Seu diagnóstico em Medicina Legal)

REACÇÕES DE PROBABILIDADE E DE CERTEZA

Dissertação inaugural apresentada
á Faculdade de Medicina do Porto

165 FMP

PORTO
Escola Typográfica da Officina de S. José
Rua Alexandre Herculano
1915

FACULDADE DE MEDICINA DO PORTO

DIRECTOR

Cândido Augusto Correia de Pinho

PROFESSOR SECRETÁRIO

Álvaro Teixeira Bastos

CORPO DOCENTE

Professores Ordinários e Extraordinários

1.ª classe — Anatomia	Luiz de Freitas Viegas Joaquim Alberto Pires de Lima
2.ª classe Fisiologia e Histologia	António Plácido da Costa José de Oliveira Lima
3.ª classe — Farmacologia	Vaga
4.ª classe — Medicina legal e Anatomia Patológica	Augusto Henrique de Almeida Brandão Vaga
5.ª classe — Higiene e Bacteriologia	João Lopes da Silva Martins Júnior Alberto Pereira Pinto de Aguiar
6.ª classe — Obstetrícia e Ginecologia	Cândido Augusto Correia de Pinto Álvaro Teixeira Bastos
7.ª classe — Cirurgia	Roberto Belarmino do Rosário Frias Carlos Alberto de Lima António Joaquim de Sousa Júnior
8.ª classe — Medicina	José Dias de Almeida Júnior José Alfredo Mendes de Magalhães Tiago Augusto de Almeida
Psiquiatria	António de Sousa Magalhães e Lemos

Professores jubilados

José de Andrade Gramaxo
Pedro Augusto Dias
Maximiano Augusto de Oliveira Lemos

A Faculdade não responde pelas doutrinas expendidas na dissertação e enunciadas nas proposições.

(*Regulamento da Faculdade* de 23 de Abril de 1840, art. 155.º)

A meus Pais

Admiração sem igual pelas vossas nobres qualidades. O meu maior orgulho é ser vosso filho.

A TODOS OS MEUS

Ao meu intimo amigo

Dr. Francisco Antonio
de Magalhães

Sei quanto vos devo
e sei tambem quanto vos estimo.

Aos velhos e dedicados

Dr. Arnaldo Ferreira

Dr. Joaquim Araujo e Castro

Dr. Eduardo Silveira

Aos meus companheiros de laboratório

Dr. Abel Salazar

Dr. Francisco Coimbra

AOS MEUS CONDISCÍPULOS

Ao particular amigo

Dr. Manoel Lourenço Gomes

Homenagem ás suas altas qualidades de inteligencia, saber e carácter

Ao professor

Dr. Alvaro Bastos

Conhecer-vos é estimar-vos.

Ao meu muito digno presidente
de tése, o Ex.mo Snr.

Dr. Augusto Henrique de Almeida Brandão

Este meu trabalho a Vós o devo.
Contraí uma divida enorme.
Oxalá eu possa mostrar
quanto reconhecido vos sou.

Ao ilustrado corpo docente

da

FACULDADE de MEDICINA

do PORTO.

Breves palavras

Todo aquêle que pela primeira vez tenta ocupar-se de qualquer trabalho laboratorial, por mais simples que êle seja, vê-se a braços com um sem numero de dificuldades que passo a passo o mortificam e o desanimam.

Experiências que se eternizam e se malogram, tudo á porfia tenta acabrunhar o espírito, e criar em nós a dúvida de bom êxito.

O diagnóstico das manchas de sangue, problema aliás complicado, ainda hoje mal seguro, com divergencias de opiniões, requesita, da parte do analista, qualidades que, infelizmente, se não adquirem em poucos mêses de prática.

Tentar fazer o seu estudo completo e consciente, só é admissível quando se disponha de anos, nos quais

um trabalho aturado, uma vontade de ferro sejam sempre companheiros inseparáveis do analista.

¿Quantos anos de porfiadas e inteligêntes pesquisas não representam os trabalhos daquêles cujos nomes ficaram imorredouramente ligados á história da medicina legal?

Era intuito meu dedicar-me unica e exclusivamente ao estudo da reacção anafilática do sangue, nas suas relações com a medicina legal. O meu interesse, porêm, e o desejo de conhecer todos os dados modernos, de mais fácilmente relacionar e verificar as vantagens de todos os métodos, levaram-me a procurar fazer um estudo pormenorizado de todas as reacções que pudessem ser aproveitadas como recursos úteis na diagnose das manchas de sangue.

Segui passo a passo essas reacções, experimentei-as largamente, tanto quanto os recursos de ocasião mo permitiram.

Reconheci em breve a vastidão do assunto e notei quão difícil seria fazer dum só lance, tudo quanto se liga com o delicado problema médico-legal das manchas.

Um só caminho tinha a seguir.

Dividi-lo em duas partes, já que o assunto a isso se prestava pela diversidade de carácter das suas reacções.

Dum lado as reacções físico-químicas, doutro as reacções biológicas.

Na primeira publicação tratarei de generalidades sobre as manchas de sangue, e suas reacções de probabilidade e certeza.

As reacções de especificidade, farão parte doutro trabalho, que em breve publicarei.

Este trabalho representa longos dias de preparação, de esforços e desánimos e é naturalmente um trabalho de compilação, mas no qual as reacções foram largamente verificadas com experiencias que se sucederam interminávelmente. Uma unica utilidade tem: mostra quão faliveis são a maior parte dos processos ainda ontem tidos como óptimos, e como será preciso proceder a muitos, muitíssimos trabalhos, para poder torná-los seguros.

Que o digno juri a quem vai ser confiado o julgamento dêste trabalho, me leve em conta o pouco tempo de que dispús e se lembre que a minha ainda reduzida vida de laboratorio, não me

poderá ter dado qualidades de analista seguro, mediocre sequer.

*

Sinto-me feliz em poder patentear aqui o meu agradecimento a todos os que me auxiliaram e me cederam recursos incalculáveis, sem os quais naturalmente não levaria a cabo o meu trabalho.

Ao Ex.mo Snr. Dr. Henrique de Almeida Brandão, que não só foi incansável, fornecendo-me todo o material de laboratório, mas até levou o seu auxílio a incitamentos e conselhos preciosos, aqui lhe fica consignada a minha mais profunda gratidão.

Ao Ex.mo Snr. Dr. Alvaro Bastos a minha estima e reconhecimento pela maneira lial e desinteressada com que me forneceu todos os importantes elementos ao seu alcance.

Agradeço tambem sinceramente ao Ex.mo Snr. Dr. Alberto de Aguiar a amável disposição com que me atendeu, dissipando-me várias dúvidas.

Reconhecido me mostro ao professor Lecha-Marzo de Valladolid, pela bondade com que acolheu os meus pedidos, fornecendo-me dados de grande utilidade.

Enfim, não esquecerei o valioso auxílio prestado por o meu particular e inteligente amigo Marques de Abreu, na tiragem das gravuras que acompanham éste trabalho.

CAPITULO I

Generalidades

Resumo

I Resumo histórico.
II Caractéres e aspectos das manchas de sangue.
III Forma das manchas.
IV Solubilidade das manchas.
V Idade das manchas.
VI Colheita das manchas.
VII Protecção e transporte das manchas.

Generalidades

Resumo histórico Depois que Donné, Bayard e Devergie mostraram o alcance médico-legal do estudo das manchas de sangue, só Charles Robin conseguiu, servindo-se do microscópio, dar um forte impulso ao complicado problema do seu diagnóstico.

Charles Robin marca, pois, uma época nova para a medicina legal, e positivamente, ás suas experiências se deve a orientação tomada por Vibert e Lacassagne nos seus completos trabalhos sobre este assunto. Fácil é de compreender que não é muito longa a história das manchas, visto que são relativamente recentes todos os trabalhos de pesquisa,

efectuados sobre as qualidades e propriedades do sangue.

A notícia seriada de todas as reacções, de todos os métodos aparecidos como eficazes para a diagnose do sangue nas manchas, alêm de inútil, é fastidiosa, mas a titulo de curiosidade, convem citar que, inclusivamente, até o proprio cheiro serviu a Fourcroy e Barruel para investigarem a orígem duma mancha sangùínea.

Hoje, é vasto o problema médico-legal das manchas, por serem mais bem conhecidas as propriedades físicas, químicas e biológicas do sangue. Não se limita a pesquisa á verificação pura e simples de sangue, vai-se mais longe, conseguindo-se apurar se êle é ou não humano.

Se vamos buscar á positividade dos métodos fundados nas propriedades físico-químicas e histológicas, a certeza absoluta da presença de sangue, as suas qualidades biológicas belamente aproveitadas, resolvem o problema da orígem, da especificidade.

As reacções biológicas do sangue decifraram, pois, o intrincado problema da origem do sangue, fazendo caír á margem todos os outros processos há pouco citados como unicos e que



Manchas de sangue.

Fig. a ⎫ mão ensangüentada sacudida junto
Fig. b ⎭ a uma parede.

Fig. c ⎫
Fig. d ⎭ impressões digitaes

EST. IV

(Simili-gravura Marques Abreu)

se baseavam no seu diferente poder de coagulação, na resistencia a acção dos alcalis, nas diferentes formas de cristais de hemoglobina, etc.

Caractéres e aspectos das manchas de sangue

Milhares são as causas que contribuem para dar ás manchas de sangue aspectos diferentes, alguns dos quais vêm modificar completamente a sua feição característica. Alêm das causas externas, outras há que modificam extraordinariamente a sua forma e os seus caractéres, como sejam a qualidade do sangue, o seu poder de coagulação e a sua riqueza em hemoglobina, fibrina e em sôro. Acrescente-se a isto a extrema variedade de suportes das manchas e ver-se-há quão dificil se torna estabelecer um tipo próprio, subordinado a aspectos próprios e específicos.

É certo que uma mancha fresca, feita num pedaço de pano absorvente, cujas malhas retenham abrigados os glóbulos rubros, tem uma coloração, que pode não deixar dúvidas a seu respeito, mas as investigações médico-legais vão caír na maior parte das vezes em manchas adulteradas pelo tempo, pela luz, pela humi-

dade, pela temperatura, quando não tenham sido mesmo lavadas e submetidas a reagentes próprios para desviarem de si todas as atenções.

São, pois, todas estas razões que tornam dificílimos os exames para as colheitas e diagnóstico.

Em geral, as manchas diferem muito, segundo o objecto em que se encontram. Se a mancha está em um pano branco, toma uma forma mais ou menos arredondada, dependendo então o seu tamanho, quer da quantidade de sangue, quer mesmo das suas qualidades.

Quando se trata, por exemplo, dum sangue pouco denso, como pode acontecer num hidrémico, num anemiado, ou mesmo no sangue que goteja dum coágulo, a mancha alarga-se e depois de sêca, pouca consistência dá ao tecido.

Ainda assim mesmo, se vê uma parte central menos concentrada e limitada por dois circulos, o mais interno dos quais bem còrado, faz um contraste apreciável com o externo, esbranquiçado, quasi na sua totalidade constituido por sôro. O sangue em geral, quando cai sobre

um pano, trespassa-o, embora dum dos lados a mancha seja muito mais nítida.

Este facto não sucede com tintas de óleo, que muitas vezes podem semelhar-se a manchas de sangue. Se o tecido não é branco, todos estes caractéres de coloração desaparecem e em muitos, senão na totalidade dos casos, só a maior consistência do pano no logar da mancha e a inspecção á luz reflectida, a podem denunciar.

A côr habitual nos tecidos escuros é semelhante á côr de bôrra de café. É particularmente nas manchas dispostas sobre objectos escuros que se observa melhor uma das características do sangue sêco, o seu brilho.

A forma arredondada das manchas de sangue, embora muito freqùente, não é a unica. Lembremo-nos das manchas produzidas, quer por mãos, quer por objectos ensanguentados, que foram limpos em panos.

O brilho das manchas está numa relação muito directa com a natureza do suporte.

Quanto menos absorvente êste fôr, tanto maior é o brilho da mancha.

Os tecidos de algodão e linho quasi não dão brilho nenhum ás manchas. O mesmo

acontece ás manchas que se tentaram disfarçar com a lavagem.

Os tecidos de lã e seda dão um brilho muito intenso e por vezes é facil descascar pequenas partículas sólidas de sangue sêco.

Estas manchas, quando se dobram, dão bem uma sensação da sua friabilidade.

Nos objectos impermeáveis, tais como pedras, objectos de aço, navalhas, punhais, etc., teem as manchas aspectos muito diferentes e muitas vezes difícil se torna distingui-las.

Encontram-se casos em que o sangue secou em largas placas, que se fendem e destacam facilmente.

Nas láminas, aparece quasi sempre o sangue em pequenas gotas, seriadas como são as cadeias de estreptococos, sêcas, o que é devido á quasi vulgar tentativa de limpeza das mesmas para ocultar o crime. Quando as láminas conteem ferrugem, o seu isolamento é difícil e só as diferentes reacções sanguíneas conseguem distingui-las e assegurar a presença de sangue.

Convem lembrar que a luz difusa e reflectida é a melhor para observar esta espécie de manchas.

A côr das manchas varía muito com os agentes externos, mas a sua modificação obedece vulgarmente á idade, ao local em que são conservadas, á temperatura, á luz e grau de humidade.

As diferentes modificações observadas podem resumir-se aos seguintes tipos:

Parda.
Castanha.
„ avermelhada.
„ esverdeada.
Rosea.
Verde azeitona.
Acinzentada.

Toda a mancha, mesmo conservada em bôas condições, tende a tornar-se escura, côr de café.

Há manchas em que a transformação em hematina foi quási total. Nestas deve-se procurar sempre observar o dicromismo. Na realidade, estas manchas dão á luz reflectida e difusa uma côr esverdeada e á luz directa e mesmo por transparência, um tom avermelhado.

Á luz reflectida, fazendo-se variar a posi-

ção do foco luminoso, pode-se muito bem observar um forte brilho irisado.

Resumindo, diremos que em geral, as manchas novas teem uma côr vermelho-rosea, com um brilho esverdeado e que a idade, principalmente auxiliada pela luz, a vai fazendo passar por castanho avermelhado, castanho franco e por ultimo castanho escuro.

Quando o sangue das manchas tem grande quantidade de hematina, estas teem um aspecto muito semelhante á ferrugem.

O aspecto das manchas varia, pois, essencialmente com as condições a que estiveram sujeitas. Tudo deriva e se filia nas transformações que a hemoglobina sofre. De todas as acções externas, a de maior influência é sem duvida a da luz. Manchas que conservei fóra do contacto da luz, mantiveram durante mêses quási o seu aspecto primitivo. A luz tem até uma acção muito superior á humidade.

Forma das manchas

Neste caso, tem uma acção principal a natureza do suporte. Ainda há pouco, notei que o facto de serem ou não absorventes os objectos sobre que assentam as manchas,

tinha uma acção inteiramente sensivel sobre a sua forma e até sobre a sua coloração.

Os objectos absorventes, tais como panos etc., alargam a mancha e modificam apreciavelmente a sua forma. Não repetirei agora qual a forma especial das manchas sobre panos.

O proprio acto da lavagem duma mancha, alêm de a descòrar fortemente, alarga-a muito. O facto de o suporte não ser absorvente faz com que a mancha, ao secar, conserve a sua forma inicial. Mesmo nas manchas feitas em tecidos, estas conservam muitas vezes a sua forma inicial.

É o que se observa quando a quantidade de sangue foi muito reduzida, ou então mesmo quando a mancha está sobre um pano gomado, por exemplo colarinhos, punhos, etc.

Nos objectos, tais como navalhas, paus, etc., o sangue condensa-se nas suas anfractuosidades, nas suas ranhuras.

Alêm da natureza do suporte, temos ainda a considerar a maneira como a mancha foi feita. O sangue pode ter caído em gotas verticais, ou ter sido projectado em jacto continuo, duma arteria aberta, ou ter procedido de mãos, ou

de objectos ensanguentados, que se limparam, ou sacudiram.

Pode ter sido mesmo lançado dum individuo em marcha, de diferentes alturas e a incidência pode ter sido muito variada. Nos estudos sobre este assunto, tratei de fazer as minhas experiências, fazendo caír e projectar sobre papeis, sangue humano, sangue de coelho e de carneiro. Nenhuma diferença se pode estabelecer, quanto á natureza do sangue, — a forma da mancha não nos fornece dados de espécie alguma sobre a origem animal da mesma.

Se me refiro a este facto, é tão sómente por Naumann e Day quererem, pela forma do sangue sêco, pelo seu fendilhado, obter um meio de diferença e de especificidade sangùínea. O fendilhado duma mancha sêca mesmo pelo calor, está em relação com o grau de densidade e poder de coagulação do sangue e nós sabemos, mesmo no genero humano, quanto isso é variável de indivíduo para indivíduo e até dentro do proprio indivíduo.

Fiz tambem limpar mãos ensangùentadas e navalhas a panos.

Nas Estampas de I a VI vão as fotogravuras dos originais.

Examinando a Estampa I, onde se vê a forma das manchas de gotas caídas sobre plano horizontal e oblíquo a 45°, facilmente se nota que entre as que incidem numa direcção perpendicular ou oblíqua, existem diferenças palpáveis. As que incidiram perpendicularmente teem uma forma regular, com pequenos laivos sangùíneos orientados no prolongamento dos raios terminados por pequenas gotas acessórias e ocupando regularmente toda a periferia da mancha. A propria altura do ponto onde foi despedida a gôta, não deixa de ter influência, pois quer o tamanho da mancha, quer mesmo o seu crenulado e irisado aumentam proporcionalmente á altura. Á altura de 10 cent. não se nota o crenulado.

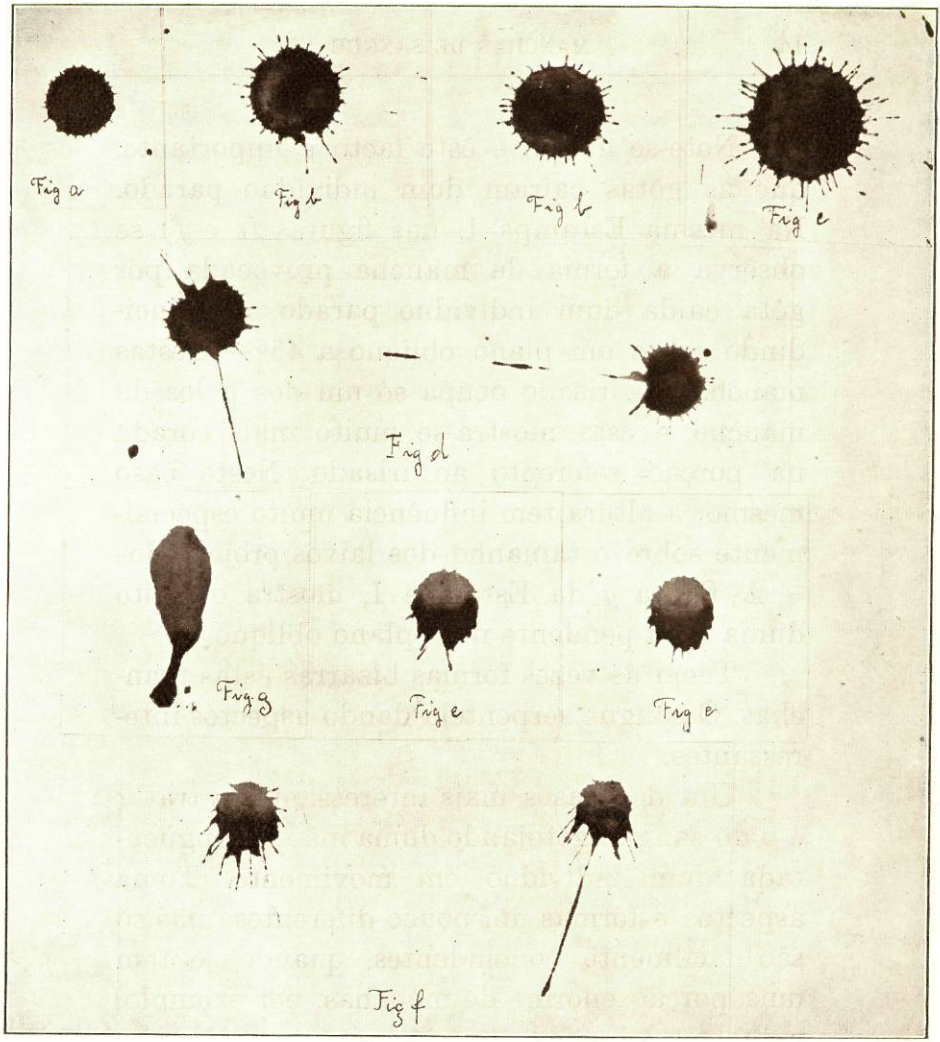
Note-se que estas manchas (fig. *á* a *c*) são provenientes do mesmo sangue e tinham o mesmo volume de gôta, pois eram medidas por um conta-gôtas.

Se estas manchas estivessem em cartão, ou mesmo em pedra, a coloração da parte central era muito mais uniforme. O papel que usei encarquilhou e formou planos de declive, que mascararam e modificaram os pontos de concentração do sangue.

Note-se ainda, e êste facto é importante, que as gôtas caíram dum indivíduo parado. Na mesma Estampa I, nas figuras (*e* e *f*) se observa a forma da mancha provocada por gôta caída dum indivíduo parado, mas incidindo sobre um plano oblíquo a 45° — Nestas manchas, o irisado ocupa só um dos polos da mancha e esta mostra-se muito mais córada na porção referente ao irisado. Neste caso mesmo, a altura tem influência muito especialmente sobre o tamanho dos laivos projectados — A figura *g* da Estampa I, mostra o efeito duma gôta pendente num plano oblíquo.

Teem ás vezes formas bizarras estas manchas. O sangue serpenteia dando aspectos interessantes.

Um dos casos mais interessantes a tratar é o do sangue gotejando duma mão ensangüentada dum indivíduo em movimento. Toma aspectos e formas um pouco diferentes, mas só são fácilmente concludentes, quando se tem uma porção enorme de manchas, por exemplo, manchas deixadas num passeio, na terra, etc. Nestes casos, o irisado e os laivos sangúineos, que sáem da mancha dirigidos segundo a marcha do individuo, são tanto maiores quanto



EST. I

Gôtas de sangue sobre plano horisontal: a 25 cm. (fig. a)
a 50 cm. (fig. b)
a 100 cm. (fig. c)
a 150 cm. (fig. d)
Gôtas de sangue sobre plano obliquo a 45° — a 50 cm. (fig. e)
a 100 cm. (fig. f)
Gôtas pendentes sobre o mesmo plano (fig. g)

(Simili-gravura Marques Abreu)

mais rápida for a marcha. É o que se observa nas figuras 1, 2 e 3, da Estampa II.

Estas manchas confundem-se com as manchas formadas em planos oblíquos, mas se repararmos atentamente nas primeiras, os laivos sangùineos, embora com predominio no polo que fica voltado para o individuo, tambem existem, no resto da periferia da mancha, embora sejam de menor grandeza.

Quando as manchas estão em grande extensão, este predominio do irisado apresenta-se muitas vezes com direcções opostas, mas a direcção do maior numero é que nos dá o verdadeiro sentido da marcha. O facto de se apresentarem algumas manchas com direcção diferente, é devido aos movimentos dos braços.

Gôta que caia, quando o braço se dirige para trás, tem naturalmente os laivos dirigidos em direcção oposta á do movimento do indivíduo.

Tratemos agora do sangue projectado, quer por arteria, quer mesmo por mãos, ou por qualquer objecto que foi sacudido.

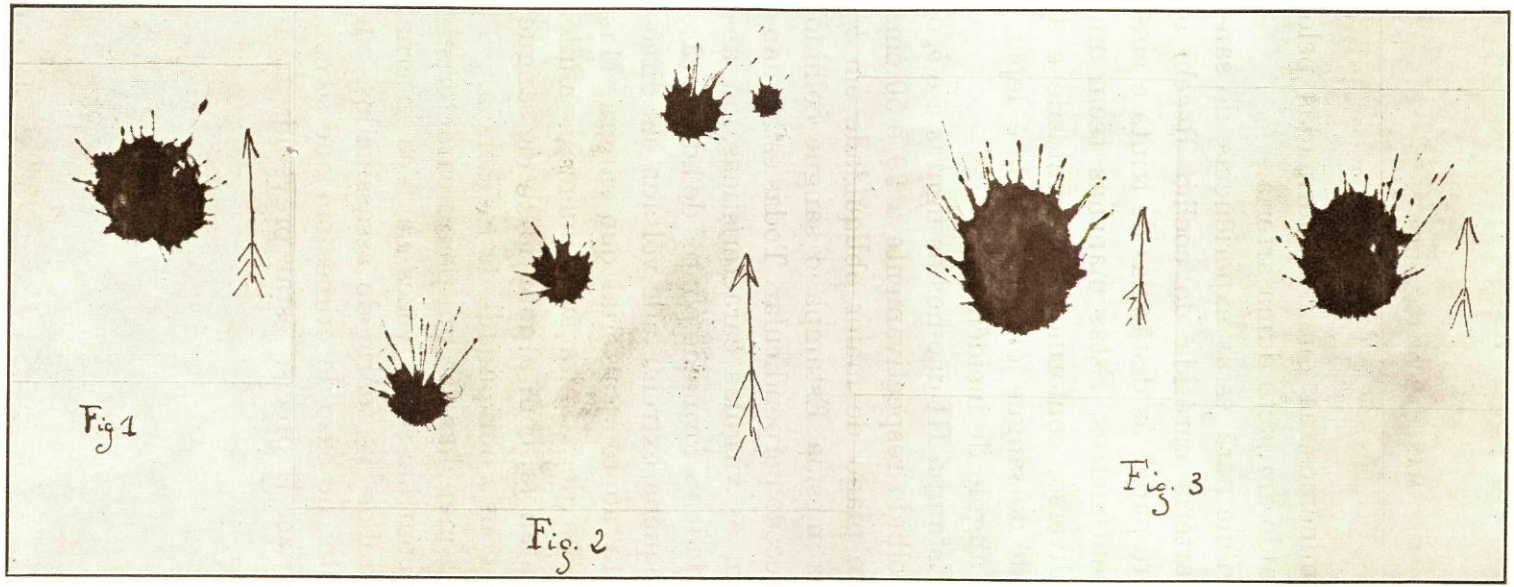
A forma das manchas faz então uma diferença grande das que acabamos de descrever.

Examinemos as que são formadas pelo sangue saído em jacto duma artéria.

Servi-me para estas experiências, do sangue da artéria carótida do coelho. Recebi o jacto sobre papel, ás distâncias de trinta e cinqùenta centímetros. Estas manchas teem um aspecto diverso, conforme a proximidade e a quantidade do sangue jorrado e ainda é dependente do ângulo de incidência.

Na Estampa III dão-nos as figuras *a* e *b*, o sangue colhido respectivamente a 30 e 50 cm. e com um plano de maior obliqùídade em *b*. Em *c*, na mesma Estampa o sangue colhido numa direcção perpendicular. Todas estas manchas teem as virgulas características, ou antes a verdadeira forma de pontos de admiração, com a pequena extremidade voltada em direcção oposta ao topo arterial que sangra. Mas estes pontos de admiração aumentam muito com a distancia, com a quantidade de sangue jorrado e com a obliqùidade da incidência.

Estas manchas são um pouco características e encontram-se ás vezes na face interna dos colarinhos, vestuário de assassinados, em paredes etc., no caso de crimes em que se cortam artérias. É preciso estar prevenido tam-



EST. II

Gôtas de sangue caídas da mão ensangüentada dum indivíduo a passo normal (fig. 1), a passo acelerado (fig. 2) e a correr (fig. 3)

(Simili-gravura Marques Abreu)

bem contra o facto de poderem aparecer estas mesmas formas á superficie externa dos fatos dos proprios assassinados. Este caso dá-se quando o assassino vibra o segundo golpe com a lámina ensangùentada. É o impulso da mão que faz despedir gotas da lámina e que apresentam um aspecto semelhante. Já se vê que do predomínio ou não dos pontos de admiração e do local onde se encontram, se tiram as provas certas se sim ou não o sangue foi proniente duma arteria.

A fórma destas manchas é sem duvida devida á pulverização e projecção do sangue.

Esta forma de pontos de admiração encontra-se tambem nas manchas deixadas por mãos e objectos ensangùentados sacudidos fortemente.

A Estampa V mostra duma maneira evidente (fig. *a* e *b*) como é facil um engano num caso semelhante.

Nessa Estampa, vê-se bem o cordão ensangùentado formado pela projecção do sangue e as manchas apresentam aspectos diferentes, conforme foram feitas no primeiro ou ultimo tempo da sacudidela.

As primeiras, as que ocupam a parte

superior das figuras, dão o aspecto de gôtas caídas num plano oblíquo, as inferiores simulam admirávelmente os pontos de interrogação. É que as feitas no primeiro tempo não levavam uma velocidade tão grande, como as feitas no ultimo tempo da sacudidela.

Alêm destas manchas derivadas da projecção de sangue, temos ainda a considerar as feitas por toques de mãos ensangùentadas e por facas, que se limparam. Estas manchas raras vezes teem características, mas no entanto casos há em que se pode depreender alguma coisa de útil. Quando as manchas são feitas, quer por toques, quer mesmo pelo limpar das mãos, é sempre útil investigar impressões digitais, muito principalmente quando se trate de suportes pouco absorventes. Os dedos, ao limparem-se, deixam muitas vezes manchas, onde é fácil reconstituir as impressões deixadas pelas faces ventrais dos mesmos. Na Estampa V, fig. *c*, observam-se impressões sangùineas separadas por sulcos descòrados relativos ás pregas dos dedos. Pelo contrario, já as manchas da Estampa VI, fig. *a* e principalmente a da fig. *b*, não fornecem elementos, donde se possam tirar conclusões sobre a orígem das mesmas.



Diversos aspectos de manchas de sangue projectado por carotidas de coelhos.

Incidindo numa direcção perpendicular, a 50 cm. (Fig. c)

Incidindo numa direcção obliqua :

(Fig. b) a 50 cm. com forte inclinação.

(Fig. a) a 50 cm. com pequena inclinação.

(Simili-gravura Marques Abreu)

As facas, ao limparem-se, dão manchas, que não deixam de ser interessantes. Em geral, limpam-se, apertando-as e fazendo-as deslisar entre os dedos indicador e polegar da mão esquerda. Examinando a Estampa V, fig. *a* e *b*, observa-se que estas manchas são constituidas por arcadas, separadas por uma linha média mais descòrada, ou inteiramente limpa, linha correspondente ao dorso da lámina, e nota-se que a arcada da direita da gravura é maior no sentido vertical. Esta arcada marca a posição do dedo indicador, que é o que toma maior contacto com a faca. A outra corresponde ao polegar.

Se se tratasse, pois, dum indivíduo esquerdo, as arcadas tomavam a posição inversa.

Escusado será dizer-se que tudo isto pode deixar de suceder assim, com a regularidade apontada.

Em resumo, podemos tirar as seguintes conclusões:

1.º As formas das manchas são múltiplas. As que dão algumas características são as formadas por gôtas caídas ou projectadas, mas essas mesmas caracteristicas estão dependentes da altura da queda, da violência da pro-

jecção, da maior ou menor obliqùidade do plano suporte receptor.

2.º A projecção violênta do sangue, por exemplo mãos e laminas ensangùentadas sacudidas com violência, podem simular o jacto duma artéria.

3.º A direcção do jacto, ou do caminho dum ferido, ou criminoso, só pode em certos casos ser estabelecida, quando haja um conjunto razoavel de manchas.

Solubilidade das manchas Nas experiencias a que procedi, para avaliar a solubilidade do sangue, servi-me de manchas produzidas por sangue de placenta humana, ás quais fiz variar o seu modo de conservação.

Feitas umas em panos de algodão branco, outras, em casimiras azúis escuras, vieram mostrar-me á evidência, quão grande é a acção do suporte sobre o prolongamento da solubilidade das manchas. Como se verá, dos resultados obtidos pode-se concluir que as côres escuras dos tecidos conservam durante mais tempo a solubilidade das manchas em água distilada.

Descrevendo o modo como procedi nas

minhas experiências, é preciso dizer primeiro o que quero significar, quando me refiro a *uma solubilidade* completa duma mancha.

Chamo solubilização completa ao facto do desaparecimento da substancia còrante do suporte, até leves vestígios de mancha.

Sobre as amostras citadas, fiz incidir, numas, a acção da luz difusa, do ar, do sol directo, da humidade, a outras conservei-as fóra da acção dos agentes externos, devidamente cobertas por papel de filtro e acondicionadas em pequenas caixas.

Eis os resultados obtidos:

ACÇÃO DO AR E LUZ DIFUSA (1)

Mancha 1 – datando de 3 de Abril — pano branco de algodão.
» 2 — » de 3 de » — casimira azul.

	Solubilização completa em água distilada	Solubilização completa em K.OH a 1 p. c.	
Mancha 1	1 hora	3/4 hora	9 de Abril.
» 2	1/2 »	1/4 »	9 de »
» 1	1 1/2 »	1 1/4 »	18 de »
» 2	1 »	1/2 »	18 de »

(1) Estas manchas foram expostas dentro das vitrines do museu de atomia patológica.

		Solubilização completa em água distilada	Solubilização completa em K.OH a 1 p. c.	
Mancha	1	2 1/2 hora	2 1/4 hora	2 de Maio.
»	2	2 »	1 3/4 »	2 de »
»	1	3 »	3 »	2 de Junho.
»	2	2 1/4 »	2 1/4 »	2 de »

Pouco solúvel

Mancha	1	24 hora	24 hora	3 de Agosto.
»	2	18 »	18 »	3 de »

ACÇÃO DO SOL DIRECTO (1)

Mancha 3 — datando de 5 de Abril — pano branco de algodão
» 4 — « de 5 de » — casimira azul.

		Solubilização em água distilada	Solubilização em K.OH a 1 p. c.	
Mancha	3	6 horas	6 horas	insoladas durante 3 dias.
»	4	4 »	4 »	» » 3 »

	Água distilada.	Sol. de K.OH a 1 p. c.	Sol. de K.OH a 33 p. c.	Soluto de CiK	
M 3	36 horas	36 horas	10 horas	insoladas	7 dias.
M 4	24 »	24 »	7 »	»	7 »
M 3	pouco sol.	pouco sol.	pouco sol.	»	11 »
M 4	» »	» »	+ sol.	»	11 »
M 3	insolúvel	» »	pouco sol.	»	11 »
M 4	»	» »	»	»	11 »

(1) Estas manchas foram insoladas, protegidas por campânula de vidro.



Fig. a



Fig. b



EST. V

Fig. c

Fig. a \
Fig. b / impressões deixadas por lâminas ensangüentadas nos panos onde foram limpas.

Fig. c — impressões feitas por mão ensangüentada.

(Simili-gravura Marques Abreu

ACÇÃO DA HUMIDADE E DA LUZ DIFUSA (1)

Mancha 5 — datando de 5 de Abril — pano branco de algodão.
» 6 — » de 5 de » — casimira azul.

	Sol. em água distilada		
Mancha	5 — 6 horas	— 8 dias	de cámara húmida.
»	6 — » »	— 8 »	» » »
»	5 — 8 »	— 15 »	» » »
»	6 — » «	— 15 »	» » »

ACÇÃO DO CALOR

Mancha 7 — pano branco de algodão.
Insoluvel em água distilada. } aquecimento
Pouco soluvel em K.OH a 1 %. } a 100 graus
Soluvel em K.HO a 33 %. } 1 1/2 horas.

CONSERVAÇÃO FORA DA ACÇÃO DA LUZ E HUMIDADE

Mancha 8 — datando de 3 de Abril — pano branco de algodão.
» 9 — » de 3 de » — casimira azul.

	Solubilização completa em água distilada	
Mancha	8 — 10 minutos	— 10 de Abril.
»	9 — 10 »	— 10 de »
»	8 — 15 »	— 11 de Maio.
»	9 — 15 »	— 11 de »
»	8 — 30 »	— 9 de Junho.
»	9 — 30 »	— 9 de »

(1) Estas manchas foram conservadas em cámara húmida.

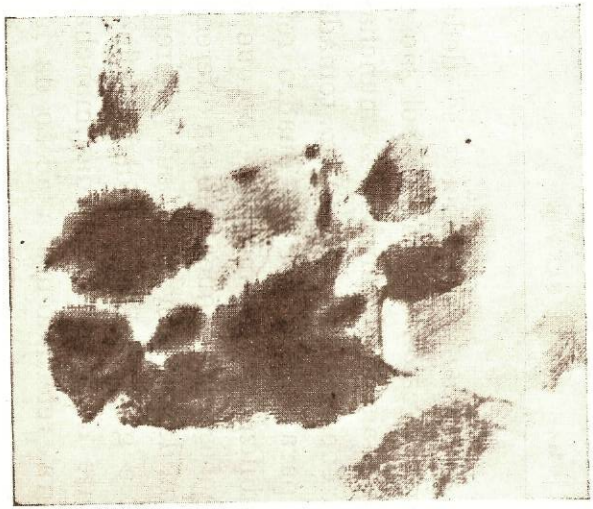
Destas pequenas experiências se deduz facilmente que o calor e a luz do sol são os agentes que mais insolubilizam as manchas. Estas experiências não podem ser tomadas como base para estabelecer um quadro referente á solubilização das manchas, porque as proprias estações do ano, quer pelo seu diferente grau de humidade, quer pela sua diferente temperatura e grau de luminusidade, influem poderosamente na modificação das manchas.

Em regra, referindo-nos á acção da luz, podemos dizer com Leers, que dias de acção directa do sol correspondem a semanas de luz difusa. Nas manchas expostas á luz do sol, é preciso notar que alêm da luz, se deve contar com a acção do calor, a qual não é menos modificadora, em relação ao poder de solubilidade.

Leers com 14 dias de insolação, não pôde obter nenhum espectro da solução duma mancha.

O poder de solubilidade duma mancha está ainda em relação estreita com a natureza do suporte. É bem sabido que as manchas feitas em objectos de ferro, difícilmente se solubilizam, o que é devido muito provavelmente ás





EST. VI

Fig. a

Fig. b

Impressões deixadas por mãos ensangüentadas, em panos.

(Similigravura Marques Abreu)

combinações insolúveis, formadas com o auxílio da ferrugem.

A madeira, a argamassa, a cal das paredes tambem tornam fácilmente insolúveis as manchas.

A podridão adiantada actua semelhantemente á acção da luz, mas podemos dizer que o sangue, sujeito a acção do ar húmido, conserva ainda durante bastante tempo o seu poder de solubilidade na água distilada.

Várias tem sido as soluções indicadas como próprias para a solubilização das manchas. As mais usadas são as de potassa a 1 %, 2 %, ou mesmo a 33 %. A hematina dissolve-se com facilidade nas soluções de cianeto de potássio e de hidrato de cloral. Alguns autores modernos chegam a indicar o acido sulfúrico como dissolvente de manchas muito antigas.

Outros, como Sehultz, aconselham que se faça a redução com zinco, numa solução de potassa, em banho-maria.

Estes métodos são pouco usados, pois em geral, as manchas que chegam ao médico legista, são, na sua quási totalidade, relativamente recentes.

Nas manchas de que tenho feito uso para

o meu estudo, servi-me sempre de soluções de potassa, cuja acção auxiliava por um calor brando.

NOTA. — Ultimamente, tive ocasião de avaliar num crime efectuado no logar do Bacêlo, Campanhã, — a influência bem precisa do calor e luz sobre as manchas de sangue. O lugar onde o indivíduo foi ferido, dista uns 170 metros do ponto onde caiu morto.

No seu trajecto, teve que passar e saltar por cima dum muro, onde deixou extensas manchas de sangue. Êste muro, alêm de estar abrigado pela sombra duma arvore, foi revestido, depois do crime, por uma camada de silvas, a fim de impedir que os curiosos o avançassem.

No local onde o assassinado morreu, havia manchas nas portas e paredes da casa, onde tinha ido bater por socorro. No chão encontravam-se uns trapos de pano escuro ensangùentados.

Todo êste local, virado ao sul e bastante desabrigado, está sob a acção directa dos raios solares. Colhi amostras de todas estas manchas, que se dissolveram mais ou menos facilmente

na água, mas as que foram retiradas do muro dissolveram-se rápidamente, dando uma coloração bastante carregada, ao passo que as outras, mais custosas de dissolver, deram soluções mais fracas.

Note-se ainda que as manchas do pano escuro se dissolveram melhor que as das portas e estas melhor que as das paredes de cal branca. Todas estas ultimas estiveram durante 7 dias expostas ás mesmas condições externas, mas o suporte era diferente, pois o pano, como disse, era escuro, vermelhas as portas e brancas as paredes. Este facto teve uma acção sobre o grau de solubilidade das manchas.

Idade das manchas Nada mais incerto, nada mais difícil que avaliar com exactidão a idade duma mancha.

Os dados de que se lança mão, de ordinario são fornecidos, quer pela coloração, quer pelo poder de solubilidade das manchas. Ora, no mesmo prazo de tempo, a mesma mancha pode sofrer diversas alterações, conforme as circunstâncias externas que a cercaram.

Só quando estas condições são bem conhe-

cidas, é que o médico legista pode atribuir-lhe uma idade aproximada.

Tomellini, fundado na variação de côr que uma mancha sofre com o tempo, fez uma escala onde se observam as diferentes colorações do sangue, de horas até mêses de idade. Mas Tomellini não fez escalas de coloração em manchas expostas á infinita variedade de agentes externos modificadores e para cada caso em particular, seria preciso construir escalas especiais.

Obtida mesmo que fosse esta infinidade de escalas, seria ainda assim necessário o conhecimento exacto do ambiente a que esteve submetida a mancha, cuja idade quisessemos avaliar.

O ilustrado professor Lecha Marzo de Valladolid, indica como meio útil, dar-se uma picada num dedo e esperar que a mancha obtida tenha a mesma coloração que a outra dava na escála de Tomellini. Como se vê, os meios não são rigorosos, nem absolutos, mas o médico legista pode dizer: se esta mancha esteve em tais circunstâncias... deve ser tal... a sua idade aproximada.

Leers avalia a idade aproximada duma mancha, quer pela sua solubilidade na água

distilada, quer pela natureza do aspecto da sua solução. Assim divide-as em:

manchas frescas — fácilmente soluveis em água distilada e dando o espectro da oxi-hemoglobina;

manchas com dias — dissolvem-se mais lentamente e dão o espectro da met-hemoglobina;

manchas com semanas — dissolvem-se com dificuldade, mais fácilmente em K.OH a 2 %o e no espectro revela-se sómente o hemocromogénio, quando se dissolve a parte média da mancha, onde se podem ainda ver glóbulos vermelhos pouco alterados;

manchas velhas — dissolvem-se só em K.OH a 33 %o, auxiliadas pelo aquecimento, não se vêem glóbulos vermelhos na parte média e a periferia da mancha dá o espectro do hemocromogénio.

Estas averiguações fá-las Leers, servindo-se do micro-espectroscópio.

Já vimos, porêm, que a luz do sol, a temperatura etc. dão em pouco tempo ás manchas as mesmas transformações que a luz difusa

prolongada durante semanas e até mêses. O método do Leers é como os outros, um método de aproximação, nada mais. O médico legista deve dar importância ao modo como as manchas estiveram conservadas, para com maior aproximação poder determinar a sua idade. Ás vezes, sangue datando da mesma ocasião, proveniente do mesmo indivíduo, como no caso de Campanhã, apresenta aspectos muito diferentes, conforme o lugar e o suporte que teve. Só o conhecimento dêstes factos pode levar o médico legista a conclusões seguras.

Colheita das manchas Só ao médico legista devia pertencer este difícil e importante trabalho. Do exame ao local do crime, colhem-se sinais, dados, de extraordinária importância, que influem poderosamente no resultado final das pesquisas. Ás vezes pequeninos nadas, restituem ao crime a verdadeira scena. Milhares de exemplos podia chamar aqui, para mostrar a importância absoluta dêstes exames. É que só no logar do crime, o médico legista pode fazer uma ideia verdadeira da topografia das manchas. O agrupamento, numero, disposição,

forma e grandeza das manchas, o estudo dos suas relações, só por um técnico habilitado, por um médico legista emfim, devem ser observadas, de molde a retirar delas toda a sua importância.

E se manchas há, que bem visiveis se tornam a olhos profanos, outras existem duma dificuldade enorme de percepção e para as quais é preciso usar de artifícios. O exame médico-legal não deve ser feito só aos pontos manchados, deve estender-se a todos os objectos que os cercam. O médico legista deve sistemáticamente observar, por exemplo dentro dum quarto, as portas, paredes, chão, o proprio teto, cadeiras, moveis, quadros, tapetes, chaves, puxadores das fechaduras etc.

Deve pela seriação, pela localização e forma das manchas, saber se o lugar do encontro do cadaver corresponde ao lugar do assassinato. Deve tirar fotografias, *croquis*, decalcar mesmo as manchas pequenas com películas fotográficas, com papeis gelatinados, etc.

A fotografia é um auxiliar de grande importância nestes casos. Alêm de ser o melhor documento, pode, quando perfeita, dar todas as variantes de coloração duma mancha,

variantes muito importantes em manchas que se tenham tentado dissimular pela lavagem. Para conseguir estas fotografias, devem-se escolher chapas apropriadas aos diferentes assuntos.

Assim, manchas sobre fundos claros de côr verde, azul e castanho podem ser impressionadas com chapas vulgares. Se o fundo é azul escuro, cinzento escuro ou preto, podem usar-se ainda as mesmas chapas, mas é preciso impressioná-las com um *écran* azul. Finalmente, para os fundos amarelo-escuros, verdes escuros e vermelhos, só as chapas ortocromáticas com *écran* amarelo, podem dar boas fotografias.

O decalque pode fazer-se com papel transparente, no qual com picadas de alfinete, se desenham todos os contornos. Sobre estes contornos e já depois de retirado o papel de cima das manchas, se faz um traço a tinta.

Nestes descalques deve fazer-se o possivel por conservar entre os desenhos as mesmas relações que as manchas ocupam entre si.

Um dos melhores processos de recolher pequenas manchas, é sem dúvida o utilizado e proposto pelo professor Lecha-Marzo. Êste

distinto professor serve-se de películas fotográficas, ás quaes se retira todo o sal de prata por meio dum banho de hiposulfito de sódio a 20 %.

Entende-se bem que se trata de películas ainda não impressionadas e que a sua preparação se faz no quarto escuro. Depois de bem lavadas e sêcas, são cortadas em tamanhos semelhantes aos das laminas usuais e acauteladas de qualquer conspurcação. Tambêm se podem usar papeis gelatinados de cloreto de prata, papeis celoidina, etc.

É-lhes retirada a prata, á luz difusa, num banho de hiposulfito a 15 %. Lavam-se em seguida até completa eliminação do hiposulfito, o que se pode avaliar, fazendo actuar um soluto de permanganato de potassio a $^1/_{10000}$, sobre a água de lavagem.

Pequenas gotas da solução de permanganato conservam a sua côr vinosa, quando não há hiposulfito na água.

Pronto este material, nada mais resta do que fazer uma compressão, com as películas ou papeis humedecidos em água distilada, sobre as manchas. Por êste processo, do qual me servi algumas vezes, obtem-se uma figura absolutamente semelhante á da mancha.

Feita sobre uma película, depois de sêca, pode ser utilizada como negativo para a obtenção de cópias.

Este processo de extraordinário alcance, poupa muito material e serve, quer para reacções cristalográficas, quer mesmo para exames espectrais (espectro-microscópio).

Quando as manchas são transportadas directamente para os papeis, temos que nos servir do aparelho de Florence a fim de fazermos o seu exame microscópico. É interessante o processo e de grandes comodidades.

Em várias experiências, convenci-me de que o uso das películas é muito mais vantajoso que o dos papeis, pois que alêm de poderem servir como negativos, observam-se muito bem ao microscópio, em virtude da transparência da celuloide. O tempo que leva a fazer o transporte varía com a antiguidade da mancha, mas posso dizer que é mais fácil fazer um bom transporte sobre uma película, do que obter uma razoavel solução.

Coma mesma película, quando mal impressionada, pode-se repetir a compressão na mesma mancha. Deve-se, sempre que se possa, impressionar diferentes películas. Todas as

reacções do sangue, tais como, Van Deen, Kastle Meyer Adler, etc., podem ser feitas sobre estas películas. Obtive com grande facilidade cristais de iodidrato de hematina, com o transporte sobre a película, de uma mancha de sangue existente numa folha de navalha de barba.

Convem, por ultimo dizer que este processo deve sêr de preferência empregado em manchas existentes em madeira, paredes lisas, espelhos, armas etc. Terminando esta descrição, cumpre-me recomendar aos médicos legistas êste tão útil como cómodo processo, devido aos trabalhos dos ilustres professores Lecha Marzo e Maestre.

No exame a um cadaver, deve haver todo o cuidado em observar detidamente as disposições das manchas e numerá-las, se possivel fôr. Procurem-se sempre vestígios do assassino, mesmo no corpo do proprio assassinado, e investiguem-se e fotografem-se impressões digitais.

Estas impressões devem sempre ser respeitadas e evitar que se disfarçem, ou se maculem, com as mãos do observador. Nos fatos e vestuários, quando se julgue, ou suspeite que foram lavados, devem-se procurar

vestígios de sangue, quer nos bolsos quer nas costuras. Os trajes dos assassinos nem sempre apresentam manchas de sangue, o que é devido ao facto dos vestuários dos assassinados evitarem que o sangue saia em jacto. A proposito da ausência de manchas nos fatos dos assassinos, convem lembrar um caso descrito por Taylor, no qual o assasino se despia por completo, para levar a cabo os seus projectos, sem que deixasse vestigios, ou manchas que pudessem servir para uma orientação judicial. Leers recomenda que se averigúe se o assassino, ou sua familia, fizeram lavagens extraordinárias de roupas.

Nas armas, facas, láminas deve-se procurar o sangue em todas as depresões, nomeadamente na ranhura situada no dorso, destinada á sua abertura. O aparelho de Florence deve sempre ser usado nêstes casos, pois mesmo em láminas lavadas é possivel descobrir glóbulos rubros.

O exame não se deve limitar ás armas, deve-se estender a tudo que as acompanha: detritos de madeira, palha, erva, etc. Gross cita um caso, onde o crime foi descoberto por um pequeno fragmento de erva, que vinha numa lámina dum sabre.

Apesar de não haver na espada vestígios de sangue, o pequeno fragmento de erva levou-o a procurar no local do crime, sangue na relva e assim reconstituiu o crime.

Protecção e transporte das manchas

A protecção e transporte das manchas e objectos, sobre os quais estão depositadas impressões digitais e outras, constitúi um dos pontos essenciais do problema médico-legal.

Um mau transporte, uma má embalagem, podem desfigurar por completo dados importantes para a reconstituição dum crime.

O médico legista deve abster-se de tocar nos objectos manchados, para os não conspurcar, ou até para lhes não fazer desaparecer as suas características. Deve-se evitar um grande contacto das mãos e estas, segundo o conselho de Dervieux e Leclercq, devem estar enluvadas.

Deve-se evitar todo e qualquer atrito da mancha com o seu invólucro, e êste nunca será feito de papeis de jornais.

A polícia alemã tem para seu uso caixas com um material completo. Desde as garrafas, frascos, até ás láminas e pipêtas esterilizadas,

nada lhes falta. As suas instruções são de molde a recolher, com o máximo esmero e cuidado, tudo quanto possa ser causa de crime.

O isolamento das diferentes peças é feito em fino e puro papel branco e com talas de madeira. Leers cita ainda como útil o isolalamento e secagem das manchas frescas com algodão hidrófilo puro. N'estas, depois de fotografadas, deve-se fazer uma larga aspiração com pipêtas esterilizadas, que depois se fecham á lâmpada.

O resto da mancha deve ser absorvido em papel de chupar, ou mesmo papel de filtro de boa qualidade. Para o transporte de terra ensangùentada, usam frascos, ou recipientes esmaltados, onde recolhem larga e totalmente a mancha.

Este facto é importante, quando se trata de avaliar com aproximação a quantidade de sangue derramado. Nas manchas sêcas e existentes em superficies lisas, como folhas de arvore etc., aconselha Gross a redução a pequenos fragmentos e o amolecimento com sôro fisiologico. Nos tapetes, madeira, cal, etc. o melhor é cortá-las o mais longe possivel dos seus limites. Só em último caso, se

deve tentar destacar a mancha, porque pàrticamente está averiguado que se perde uma larga quantidade de sangue.

A justiça pode e deve requisitar tudo quanto lhe seja útil, de maneira que o médico legista nunca deve, só por espirito de conservação, abster-se de trazer ou de deteriorar os suportes onde se encontram as manchas. Stockis, de Liége, nas suas completas instruções á polícia, dá conselhos preciosos.

"É preciso, diz elle, que nada do que apareça de extranho sobre um objecto, possa ser imputado ao seu manuseamento, embalagem ou transporte. Tudo deve ser conservado na íntegra, para melhor desenvolvimento das pesquisas médico-legais.

Os objectos sobre os quais, no seu curioso e tão útil edital, faz recaír a atenção, divide-os Stockis em sete grupos:

1.º Grupo. Garrafas, copos, chávenas, pratos, travessas, candieiros, globos de vidro, *bibelots* de vidro, porcelana ou metal liso, pequenas caixas, como as de fósforos e finalmente pequenos cofres.

Manda que estes objectos sejam tomados

pelas arestas onde não hája vestigios de manchas. Servirem-se de luvas, tomarem os objectos com o máximo dos cuidados e colocá-los em caixas limpas, apoiando uma das extremidades no fundo das mesmas, tendo o cuidado de ajustar, com bocados de madeira, cortiça, ou papel, a sua outra extremidade contra a parede oposta da caixa. Desta maneira, o objecto fica suspenso pelas suas extremidades, sem que as suas outras paredes sofram o menor atrito. Para os copos, na falta de caixas, pode-se ainda com dois cartões fortes e mais largos que o diametro do copo, aplicá-los fortemente apertados com fios, nas suas extremidades, fazendo assim uma especie de gaiola.

Para as garrafas, ainda nos podemos servir de grandes cartões (um calendario de parede, por ex.).

Colocando a garrafa em cima deste cartão, fazem-se incisões radiadas a partir do seu centro, separadas tres a quatro centímetros umas das outras. Vergam-se estes retalhos sobre o gargalo, onde se ligam com uma fita, tendo o cuidado de os deixar arqueados, de maneira a não tocarem nas paredes das garrafas. Para transportar globos de vidro, *abat-jours*, metem-se

em duas caixas de chapéus, voltadas uma sobre a outra e fortemente apertadas com fios.

Quando as caixas, onde se colocam os objectos, forem pequenas, deixam-se os mesmos sobre fios, que facílitam depois a sua extracção. Todas as caixas devem ser apertadas com fio e nunca seguras com pregos, afim de evitar todo e qualquer choque.

2.º Grupo. Papeis, cartas, livros e cartões. Não devem ser dobrados, mas sim seguros em caixas com alfinetes, ou com *punaises,* tal como foram encontrados. Podem ainda ser transportados entre cartões, separados por pequenos fragmentos de madeira e fortemente apertados com fios.

3.º Grupo. Quadros, espelhos, janelas fragmentos de móveis, etc.

Transportam-se isolados, em armações de madeira, evitando todo o atrito.

4.º Grupo. Fragmentos de vidro, ou porcelana, pequenos espelhos, etc.

Não se devem embrulhar em papeis, mas sim transportá-los em caixas e colocados oblí-

quamente, de maneira, a não tocarem as paredes senão pelos seus bordos.

5.º Grupo. Instrumentos, armas e ferramentas. Liguem-se estes objectos, a cartões, ou melhor, em tampas de caixas, com duas laçadas, que atravessem buracos apropriados, feitos na ocasião e em que o nó esteja de lado de fóra da tampa.

Objectos pequenos podem-se introduzir em frascos e embrulhados em papel de filtro. Armas, revólveres devem ser transportados em caixas, imobilizados e travados com voltas de fio entre o gatilho e cão, quando tenham ainda cargas.

6.º Grupo. Vestidos, fatos, panos, etc. Não se devem amarrotar, com o pretexto de se lhes diminuir o volume. Devem-se trazer estendidos em caixas, quando possivel fôr, ou então enrolados, com uma folha de papel branco de permeio, a fim de evitar que as manchas se misturem umas com as outras.

7.º Grupo. Pedaços de estuque, impressões de panos, rodas, etc., levantam-se larga-

mente e transportam-se em caixas, em cima de papel e palha. Todas estas amostras devem ser devidamente etiquetadas e remetidas com a máxima urgência aos laboratórios médico-legais.

Deve-se evitar tanto quanto possivel o transporte em caminho de ferro. Transportem-se na mão, tendo o cuidado de não os voltar, a fim de que se não desloquem.

CAPITULO II

Reacções de probabilidade

RESUMO

I Acção da água distilada.
II Acção do amoníaco.
III Acção da potassa cáustica.
IV Acção do ácido hipoclorôso.
V Pesquisa do azote e ferro do sangue.
VI Pesquisa da albumina, fibrina e serina.
VII Reaccão do hipobromito de sódio.
VIII Reacção da água oxigenada.
IX Reacção de Van Deen.
X Reacção de Kastle-Meyer.
XI Reacção da fluoresceína.
XII Reacção de Bourquelot.
XIII Reacção do ácido pirogálhico.
XIV Reacção da benzidina.
XV Reacção da aloina.
XVI Reacção da parafenilanima.
XVII Reacção de Donogany.
XVIII Reacção do sulfato hidrazina.
XIX Reacção da alizarina.
XX Reacção de Ganassini.

Reacções de probabilidade

Acção da água distilada Todas as vezes que façamos a solução de manchas para obter, quer as diferentes reacções còrantes, quer as espectroscópicas, podemos observar, alêm do poder de solubilização, a chamada prova da água distilada, á qual Glenard e Cazeneuve tanta importância deram. Fundada no alto poder de sulubilidade da materia còrante do sangue, embora não seja duma especificidade útil para o seu diagnóstico, consegue muitas vezes diferençar manchas doutra natureza.

Se nós lançarmos, num tubo fino de ensaio, água distilada e se depois, com cuidado fizermos sobrenadar um fragmento da mancha, obser-

vamos num curto prazo de tempo, a formação de pequenas estrias còradas, que sendo duma grande difusibilidade, desaparecem á menor agitação do tubo. Êste facto é quasi constante, quando se trate de manchas de sangue e a demora do seu aparecimento está em relação com a sua antiguidade e condições de exposição. Há contudo, manchas que não mostram esta propriedade. São as que foram submetidas á acção do calor, que foram lavadas com água a ferver, que estão em láminas enferrujadas, ou que sofreram acções químicas devidas ao seu suporte, ou a reagentes tais como o tanino. A própria gordura modifica esta reacção, sendo de aconselhar nêstes casos a mistura duma pequena porção de amoníaco á água distilada.

A técnica que apontei, deve ser modificada, quando a mancha tenha sido raspada, por exemplo, duma parede.

Neste caso, deve-se deitar logo por cima da água um pouco de algodão hidrófilo e em cima dêste o produto da raspagem. Quando se trate de porções mínimas de sangue, pode-se usar um tubo de calibre quási capilar, uma pipeta, por exemplo.

Êste processo não é absolutamente es-

pecífico do sangue, pois que com manchas recentes de permanganato de potássio, conseguem-se sempre resultados semelhantes. Florence inclina-se a que o aparecimento das estrias vermelhas é exclusivo quási constante do sangue, seja qual fôr a sua idade.

Acção do amoníaco O amoníaco não muda a côr ás manchas de sangue. Aumenta o seu poder de solubilidade e serve em muitos casos para o distinguir de sucos de frutos, de flores, de manchas de cochonilha, permanganato de potássio, de sulfocianeto de ferro, etc.

Todos estes corpos mudam de côr pela acção do amoníaco e recuperam-na pela adição dum ácido.

Sobre as manchas produzidas por êstes corpos, tem pois, uma acção manifesta que nós podemos resumir:

Sobre os frutos e flores — dá côr verde ou violeta.
Sobre o sulficianeto de ferro } côr azul
Sobre o permanganato de potássio }
Sobre a cochonilha — côr escarlate.

Acção da potassa cáustica O poder de solubilidade do sangue aumenta extraordinàriamente com a adição de solutos de potassa. Emprega-se para dissolver manchas antigas, fazendo-se variar a sua concentração de 1 até 33 por cento.

A potassa torna dicroicas as soluções sangùíneas, dando-lhes á luz reflectida uma côr esverdeada. Este facto torna-se muito apreciável, quando o observamos em larga superfície, num vidro de relogio, ou numa placa de Petri. Nas próprias manchas sêcas sobre panos é possivel examinar este dicromismo, que aparece, como já disse, em manchas muito antigas, mesmo sem a adição da potassa. Este dicromismo é devido á transformação da matéria còrante do sangue em hematina alcalina.

Acção do ácido hipoclorôso O ácido hipoclorôso, apesar da sua acção enérgica como descòrante sobre uma infinidade de corpos, tem sobre o sangue uma acção manifestamente contrária. Em vez de o descòrar, torna-o muito mais escuro, mas no entanto, no fim dalguns

minutos, este ácido pode descòrar o próprio sangue. É preciso notar no entanto, que esta acção é muito lenta, sobre soluções sangùíneas muito concentradas. Persoz dava-a quási como específica, mas Orgila averiguou que o succo de *Chelidonium* e várias misturas, como de carvão e de gordura de garança e óleo de papoila, dão quási a mesma reacção. O proprio Persoz nos diz que as nódoas de colcotar, gordura e ferrugem resistem muito tempo á acção do ácido hipoclorôso, mas que são descòradas pelo cloreto de estanho, que não tem acção análoga sobre o sangue.

Pesquisa do azote, e ferro do sangue

As manchas de sangue dão, quando sêcas pelo calor, um cheiro amoniacal e se nós fizermos o seu aquecimento num tubo de ensaio fechado por uma rôlha de algodão atravessada por papel vermelho de tornesol, vemos que este azula rápidamente. O mesmo resultado se obtem fazendo actuar a potassa sobre sangue sêco. Pode-se ainda obter, pela acção combinada da potassa cáustica e carbonato de potássio, o cianeto de potássio que nós evidenciamos, se fizermos

actuar sobre a solução uma mistura de sulfatos ferroso e férrico. Forma-se um precipitado amarelo ocre solúvel em ácido cloridrico.

A solução, que tem uma côr azul esverdeada dá pelo repouso um pequeno deposito de azul da Prússia.

O ferro pode-se pôr em evidencia por varios reagentes usados em quimica analitica.

Pesquisa de albumina, fibrina e serina — Quando nós dissolvemos uma mancha de sangue dum pano, vemos que fica sempre sobre êste uma substancia branco-acinzentada, que se pode retirar com um bisturi. Esta substancia examinada sobre uma lamina, apresenta-nos um aspecto filamentoso.

Êstes filamentos, submetidos á acção do ácido acético, tumefazem-se, tornam-se transparentes, gelatinosos, e pela acção da água iodada tornam-se azúis.

Êstes filamentos, são formados por fibrina, que se agarrou ás malhas do tecido. Êste processo é simples e mostra-nos com relativa facilidade a presença de fibrina nas manchas.

A albumina do sangue põe-se em evidên-

cia, usando todos os reagentes que a coagulam.

Os reagentes de Tanret, Esbach, Millon, modificam o aspecto das soluções sangùíneas pela precipitação da sua albumina.

O calor modifica as soluções sangùíneas, descórando-as, fazendo-lhes tomar uma côr cinzenta. A melhor maneira de verificar a presença da albumina nas soluções sangùíneas, obtem-se fazendo actuar o calor lento (65° a 70°), a banho-maria, durante meia hora e usando soluções diluidas das manchas.

Observa-se então, em vez de um precipitado, uma turvação nitida que pela adição de potassa, diminue até ao desapareccimento completo.

Para se pesquizar a serina, podemos agitar num tubo de ensaio, partes iguais de éter e de solução sangùínea e deixar repousar algum tempo. No ponto de separação dos líquidos, aparece-nos um coágulo soluvel em potassa e precipitavel em excesso do mesmo reagente.

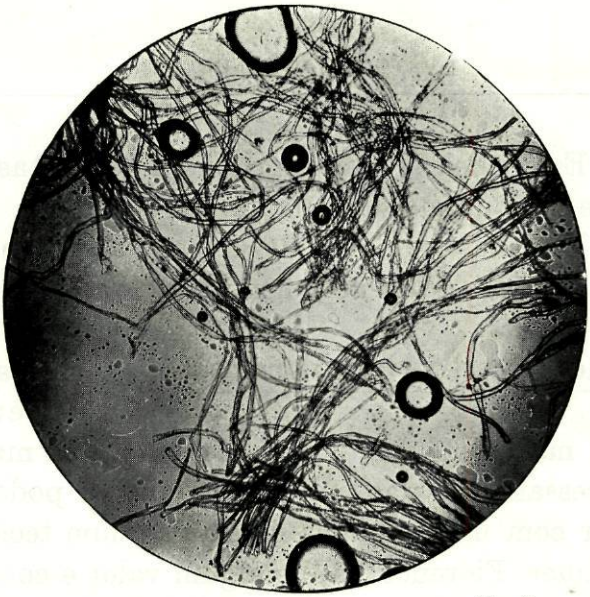
Florence liga grande importância ao cheiro a côrno queimado, que se obtem pela acção combinada da potassa e do calor, sobre uma crosta de sangue.

Esse cheiro é devido á acção da potassa sobre a albumina do sangue.

Manchas que não deem este cheiro, não são, segundo Florence, compostas de sangue.

Reacção do hipobromito Esta reacção, embora não específica, é todavia, uma das mais interessantes e das mais fáceis que se podem obter com uma mancha de sangue dum tecido qualquer. Florence dá-lhe algum valor e considera-a, quando negativa, suficiente para a exclusão da presença de sangue numa mancha.

Pode obter-se directamente com uma solução suspeita, ou então fazer-se com o proprio tecido manchado. Para isso, dissociam-se com duas agulhas uns fios do tecido, tendo o cuidado, depois de os depositar numa lámina, e de os cobrir com uma lamela. Por um dos cantos da lamela e com o auxilio de uma pipêta vae-se deitando gôta a gôta o hipobromito de sódio. Mal este toma contacto com o tecido, começa-se a formar um verdadeiro cacho de bôlhas gasosas. Estas (Est. VII), vão aumentando de volume, mantendo-se sempre agarradas aos fios do tecido.



(Fig. 1)



EST. VII

(Fig 2)

Reacção do hipobromito de sódio.

(Fig. 1) tecido muito dissociado.
(Fig. 2) tecido mal dissociado.

Manchas de sangue humano, datando de 20 dias.

Símili-gravura Marques Abreu)

Esta observação, que se faz ao microscópio pode-se tambem verificar, quando tenhamos uma grande mancha, fazendo actuar o hipobromito sobre um pedaço da mesma, num tubo de ensaio. A água de Javel dá o mesmo resultado.

O hipobromito pode-se preparar com antecipação misturando; lexívia dos saboeiros, 50 centimetros cúbicos; bromo, 5 centimetros cubicos; água distilada, 100 centimetros cúbicos.

Todas estas reacções são interessantes e embora sirvam muitas vezes para excluir a presença de sangue de manchas, são faliveis, nada especificas, positivas não só com sangue, como com muitos outros corpos. Não são reacções, mesmo todas combinadas, donde alguma coisa de útil possa vir ao médico legista.

Hoje ainda alguns médico legistas se servem delas, mas são os primeiros a afirmar a sua pouca segurança, até quando negativas. São para reputar como perigosas, todas as conclusões feitas á sua custa. Algumas delas podem ser observadas por méro interesse scientífico, nada mais.

Hoje a medicina legal recorre a outras reacções que, quando positivas, nos dão a plena certeza da presença do sangue. É interessante

dizer que essa positividade só aparece com as reacções cristalográficas, espectrais e microscópicas.

Reacção de Schœnbein ou de Richter (agua oxigenada) Em 1863, descreveu Schœnbein a interessante propriedade que tinha o sangue de, em contacto com a água oxigenada, libertar-lhe o oxigenio.

Esta propriedade, como todas as qualidades novas do sangue, foi logo estudada por bastantes médico legistas, que a aproveitaram para as pesquisas sobre manchas de sangue. Esta reacção deve sêr abandonada, pelas varias razões que se depreendem do conheciduma infinidade de corpos que a dão positiva Experientei-a com manchas de sangue de diferentes idades, em diferentes estados de putrefacção e submetidas á acção do calor e de ácidos (acético, clorídrico, azótico e sulfúrico). A reacção é muito nítida, quando se trata de sangue muito recente, ou então de sangue de manchas conservadas ao abrigo da luz e humidade. É pouco nítida com sangue putrefacto, ou muito antigo e exposto á luz do sol. É nula em manchas

tratadas pelo ácido sulfúrico, acético e azótico, mesmo diluidos, e em manchas sobreaquecidas.

Mas, alêm do inconveniente desta reacção não ser positiva, mesmo com sangue alterado, outro aparece, porque há uma infinidade de corpos que reagem de maneira semelhante ao sangue. No quadro abaixo vão os corpos que dão esta reacção muito positiva.

Pus
saliva
suor
esperma
suco pancreatico } secreções organicas reacção muito positiva
suco de cogumelos
oxidos de prata
mercurio
manganés
ferro
culturas microbianas
levaduras
soluções coloidais { prata — muito positiva; ouro; ródio — muito positivo; platina
ferrugem — francamente positiva.

Tive ocasião de experimentar com soluções de pus, saliva e com soluções coloidais — electragol (e prata coloidal) e o lantol (ródio coloidal.) Todas elas dão uma reacção bem intensa e absolutamente semelhante á do sangue. Esta reacção é inútil e de maneira nenhuma pode servir mesmo quando negativa, como meio de exclusão. — A sua técnica é das mais faceis. Basta deixar caír uma gôta de água oxigenada sobre uma mancha de sangue. Imediátamente começa a desprender-se oxigénio, formando bolhas cujo conjuncto dá uma espuma rosea.

Nas soluções sangúíneas devemo-nos servir de pequenos tubos de ensaio e lançar com uma pipêta no fundo do tubo a água oxigenada. Então vemos aparecer pequenas bolhas gasosas que sobem á superficie, onde se aglomeram numa franca espuma.

Leclercq manda que se empregue uma água oxigenada de reacção absolutamente neutra, ou levemente alcanizáda com amoniaco, ou potassa.

Esta reacção é devida á presença no sangue de um fermento, uma catálase, a hémase de Senter, que foi bem averiguada por Loew, Shoenfeld e Vandervelde.

Esta catalase é destruida pelo calor e pelos ácidos.

A respeito da sensibilidade desta reacção, o professor Alberto de Aguiar diz-nos, na memória apresentada ao congresso de medicina de Lisboa (1906), que a reacção ainda é nitida na proporção de uma gôta de sangue para 1.500 gr. de água distilada, dêsde que haja o cuidado de depositar cem uma pipêta, a água oxigenada no fundo do tubo de ensaio.

Ainda este professor julga útil, para o descobrimento de pequenas gôtas de sangue nos tecidos escuros, a sua pulverisação com água oxigenada, que embranquecendo-as, as torna visiveis.

Leclercq e Dervieux dizem-nos que a água oxigenada transforma o sangue em compostos tais, que tornam dificílimas, se não impossiveis, todas as pesquisas ulteriores sobre o mesmo sangue.

É esta ainda uma das desvantagens a ajuntar ás muitas outras apontadas. Este método, alêm de inútil, é perigoso e portanto melhor será pô-lo de parte nas pesquisas laboratoriais.

Reacçao de Van-Deen Esta reacção, sem dúvida uma das mais seguras reacções córantes do sangue, foi sempre alvo das maiores atenções por parte dos analistas.

A tintura de gaiaco foi pela primeira vez utilizada por Schönbein na pesquisa do ozone. Mais tarde, Arnold, diferençava com ela, o leite fervido do leite cru. A honra da sua utilização para as pesquisas de sangue, cabe a Van-Deen (1860), muito embora depois dêle, Liman em 1863 e Taylor em 1770, fizessem importantes trabalhos.

Esta reacção, que, como varias outras córantes, é devida a oxidação enérgica dum corpo químico, que por essa razão muda de côr, funda-se na propriedade que teem os peróxidos, tais como, a terebintina ozonizada, a água oxigenada, etc., de mudar a côr á tintura de gaiaco, transformando-a num belo corpo azul, em presença dum fermento existente no sangue (porta-oxigénio).

Este fermento, retirando o oxigenio dos peróxidos, leva-o á tintura de gaiaco, onde o fixa energicamente sobre o ácido gaiacónico,

que entra na composição da resina com que se faz o reagente.

O produto desta energica oxidação, extraordinariamente complexo, ainda não está estudado.

Não é infelizmente, esta reacção duma bôa especificidade, Numerosos corpos a dão positiva e portanto todo o cuidado será necessário. Nunca só por esta reacção, pode o analista, no caso de ser positiva, afirmar que o soluto suspeito tem sangue.

Leport cita numerosos corpos que teem a propriedade de azular a tintura de gaiaco, mas muitos dêles oxidam-na sem a presença dos peróxidos.

A saliva, o pus, o muco dão uma reacção idêntica á do sangue, mas como se sabe, as manchas produzidas por estas secreções são sempre descòradas.

Tambem a bilis dá a mesma reacção mas as suas manchas são verdes, ou amareladas. Leport diz até que o proprio vinho azula a tintura de gaiaco, mas a reacção dá-se só horas depois e a côr azul é pouco intensa.

Leclercq e Dervieux citam uma lista numerosa de corpos que dão esta reacção. Experi-

mentei uma grande parte dêles, mas convem dizer que fazem sempre diferença da reacção dada com o sangue.

A maior parte dêles actuam directamente sobre a tintura, e dão reacções, ora extraordinariamente rápidas, ora lentas.

Outros comportam-se idênticamente ao sangue.

Os peróxidos, segundo Tarugi, córam directamente a tintura de gaiaco, formando talvez o ácido de Caro (H^2SO^5).

Todos os corpos, nos quais entra o grupo sulfocianogénico, dão reacção idêntica á do sangue e saliva. Na urina, que muitas vezes dá a reacção. a sua sensibilidade está em relação com a quantidade de sulfocianogénio que contem. A reacção com estas substancias sulfocianogenadas é lenta, não se dando em geral, senão no fim de 15 a 20 minutos.

A côr azul dada pelo sulfocianeto de potássio desaparece com o aquecimento e volta com o arrefecimento. O sangue nestas condições não retoma a côr azul pelo arrefecimento.

Vitali atribúe aos compostos ferrosos, transformados em férricos pela ebulição e que

pelo arrefecimento voltam, em frente do redutor sulfocianeto, a ferrosos, a propriedade de fazerem retomar a côr azul á tintura de gaiaco.

Sucos de vegetais, fécula de batata, fungos etc. e em geral todos os corpos que encerram oxídases, dão como a hemoglobina, a reacção de Van Deen mas perdem esta propriedade pelo aquecimento. Num pequeno quadro, podemos dizer quais os corpos que dão a côr azul á tintura de gaiaco.

CORPOS QUÍMICOS

Sulfocianetos.
Permanganato de potássio.
Perboratos.
Persulfatos.
Perácidos.
Sais de ferro e derivados (ferrugem).
Peróxidos { manganés / prata / chumbo }
Brometos.
Arsenitos.
Ferricianeto / Ferrocianeto { potassio }

Sais de mercurio
Cloro, bromo e iodo
Amoníaco
Esponja de platina
Aldeídes e ácidos organicos

CORPOS ORGÁNICOS

Goma arábica
Caseina
Leite cru
Fécula de batata
Fungos diversos
Extracto de malte
Glúten
Saliva, pus, urina suor, esperma etc.

Como bem se pode avaliar, a especificidade da reacção quasi nula é, mas no entanto podemos por meio de artificios, desviar algumas causas de erro.

Adiante daremos noticia das precauções usadas para êste fim.

Leclercq cita uma interessante causa de erro, descoberta por Ogier nas suas experiências. Ogier tinha a tintura de gaiaco numa

seringa metálica, para com maior facilidade poder borrifar uma larga impressão duma mancha, em papel Joseph.

Pois esta tintura em presença do metal da seringa, tinha-se alterado de tal maneira, que só por si, dava a côr azul, com a essência de terebintina.

No ponto onde as gôtas de terebintina caíam, formava-se uma côr azul intensa, com a forma absoluta das mesmas gôtas, forma que nada se parecia com a das manchas suspeitas. O papel embebido unicamente em essencía de terebintina, tornava-se inteiramente azul com a tintura de gaiaco que estava na seringa. Leclercq e Dervieux fizeram depois disto, um interessante estudo da acção dos metais sobre a tintura de gaiaco. Aproveitaram-se para isso de moedas de ouro, prata, niquel e cobre.

As impressões feitas com estas moedas dão uma reacção rápida e intensa com a tintura de gaiaco e a terebintina ozonizada.

As impressões obtidas com as mesmas moedas limpas e decapadas, dão a mesma reacção, embora menos intensa e mais demorada (5 minutos).

Um interior dum bolso, onde estiveram

muito tempo várias moedas, deu tambem uma reacção rápida e positiva.

Esta prova é interessante e quando feita pela impressão da moeda em papel *Joseph* humedecido, desenha nitidamente os contornos e saliencias das moedas.

É preciso contar com um factor importante nesta acção dos metais sobre a tintura do gaico. As moedas podiam ter retido o suor das mãos por onde passaram, e como se sabe, o suor dá a reacção de Van-Deen.

É preciso acrescentar este dado á acção que os metais de por si só, teem sobre a tintura de gaiaco.

Os metais no estado coloidal dão tambem a reacção de Van Deen.

Vários processos tem sido usados para desviar e impedir a acção dos compostos ferrosos e oxídases sobre a tintura de gaiaco.

Weber trata primeiro a mancha suspeita pelo ácido acético e por um soluto etérico de hidrato de cloral.

Após a junção de água, aquece o soluto evaporando assim o éter.

Neutraliza o soluto pela soda caustica e aquece-o novamente para expelir o cloroformio

que se formou. A matéria corante do sangue é assim precipitada sem conter produtos ferrosos.

Dissolve-se este precipitado no éter acidulado pelo ácido acético e usa-se êste soluto na reacção de Van Deen. Villenz, Liman, Vitali e Utz aconselham o aquecimento do soluto suspeito a 80.°, temperatura que destroe as oxídases.

Vitali tambem preconiza o emprego do sulfato de hidrazina, para o mesmo fim.

Podemos pois juntar a um soluto suspeito a tintura de gaiaco, aquecê-lo algum tempo, dois ou tres minutos, e vêr se assim azula. Neste caso, há oxídases diferentes das da hemoglobina..

Se não azular, juntamos então a água oxigenada, que nos dará ou não a côr azul ao soluto, conforme êste tenha ou não sangue.

Difícil é contudo, eliminar todos os erros possiveis. Labat referindo-se a êstes metodos, diz que para nos capacitarmos de que é impossivel desviar todas as causas de erro, basta lembrarmo-nos que até os perboratos e persulfatos dão uma reacção idêntica á do sangue.

*

É esta reacção, como se depreende desta leitura, pouco ou nada específica. A sua sensibilidade é relativamente grande, mas essa mesma está sujeita a tambem não menores variantes. Leers dá-a como sensível até 1 por 25.000, mas nas experiências a que procedi, verifiquei que a mais de 1 por 10.000 se tornava impossível a avaliação da côr azul. Mesmo nestas proporções, a côr era extraordinariamente fugaz e era preciso observar-se contra um papel branco.

Esta sensibilidade decresce muito com a putrefacção e envelhecimento do sangue. O sangue fortemente aquecido perde-a, dando muitas vezes reacção nula. Sujeita a míl perigos, pode hoje considerar-se como uma reacção de pouco valor. Mesmo quando negativa, não nos dá a exclusão da presença de sangue. É contudo, pela sua fácil realização, uma das reacções córantes que mais se pratíca, sendo seguida por muitos autores nas suas pesquisas. Talvez de todas as reacções còrantes seja esta a que deu lugar a maiores discussões e estudos

todos tendentes a mostrar o seu pouco valor específico.

MODO DE PREPARAR O REAGENTE

Resina de gaiaco — 5 gramas
Alcool a 95° — 100 „
Filtre-se, depois de dissolução completa.

A resina deve ser raspada com um bocado de vidro e aproveitar-se a parte central dum bloco. Deve-se evitar o seu contacto com metais e depois de pesada, auxilie-se a sua dissolução num almofariz. Não é muito solúvel e mesmo nestas percentagens indicadas, não se pode fazer uma solução completa.

Filtra-se depois por um papel de filtro de bôa qualidade e conserva-se em frasco de vidro com rolha de borracha e a coberto da luz.

O reagente tem uma côr amarelo-acastanhada e, se usarmos das precauções indicadas, conserva-se útil por largos mêses. Reagentes que fiz em Abril ainda estavam utilizáveis em fins de agosto. É bom verificar o seu estado de conservação, fervendo-o num tubo de ensaio. Se não azular, pode-se usar sem receio.

O reagente, contrariamente á opinião de muitos analistas, não deve ser muito concentrado, para evitar que a sua côr escura modifique a reacção.

Mesmo autores há, que afirmam que a resina de gaiaco, quando em excesso, impede a reacção, actuando como redutora.

Como agente que ceda o oxigénio para a reacção, empregam uns analistas a essência de terebintina, outros e em maior numero, servem-se da água oxigenada.

A ozonização da essência de terebintina pode-se levar a cabo por dois processos. Um, o lento, reduz-se a deixar durante dias um frasco de essência do comércio, ao contacto do ar. Outro, mais rápido, consiste em agitar e bater uma pequena porção de essência, com vareta de vidro num copo graduado. Quando bem ozonizada, deve dar uma bela côr azul com um solúto de bicromato de potássio fortemente acidulado pelo ácido sulfúrico. Deve tambem descórar uma solução de índigo.

Numerosos corpos teem sido empregados para substituir a essência de terebintina. Entre elles, citam-se, o éter ozonizado ou éter autozono (Taylor), a água de Colónia ozonizada, a

essência de eucalipto, o éter sulfúrico metilado, a água oxigenada e Hühnerfeld usa uma mistura de:

Essência de terebintina
Álcool
Clorofórmio
} aná 10 c³

Ácido acético
Água distilada
} aná 1 c³

Contudo, o melhor meio é usar-se a água oxigenada. Labat dá-lhe a preferência, fundando-se para isso nos contras que oferece a essência de terebintina, ou outros corpos semelhantes.

A essência de terebintina ozonizada, além de ser um reagente muito instável e de fácil oxidação, tem o oxigénio debaixo de três formas diferentes:

1.º No estado de dissolução e deslocável por outro gás.
2.º Debaixo duma combinação pouco estável.
3.º No estado de combinação de produtos resinosos (Berthelot).

O oxigénio que está contido na forma 2, dá água oxigenada ao contacto da água distilada, mas é dificil, se não impossível, obter com a essência de terebintina um reagente sempre igual.

Além disso, como é um corpo resinoso, dificilmente se junta ás soluções suspeitas.

Juntem-se a isto as inumeras vantagens que provêm do facto de podermos obter sempre uma bôa água oxigenada, da sua maior estabilidade, da sua fácil ligação com os solútos, e veremos que é a água oxigenada a que deve indubitavelmente ser preferida.

TÉCNICA DA REACÇÃO

Esta reacção torna-se muito visível, se a fizermos em *godets* de porcelana, ou na falta dêstes, em vidros de relógio colocados sobre papel branco. Dados os conhecimentos que apontei, escusado será dizer-se que todas as precauções serão poucas, quando se pratica esta reaçcão.

Deve, primeiro que tudo, todo o analista conscencioso, verificar a qualidade dos reagen-

tes que vai empregar. Para isso, serve-se de três *godet* nos quais deita:

No primeiro, uma gôta do soluto sangùíneo diluido e uma gôta da tintura de gaiaco; no segundo, uma gôta da tintura e outra de essência de terebintina, ou água oxigenada; no terceiro, uma gôta do soluto sangùíneo diluido, uma gôta de tintura de gaiaco e finalmente outra de essência, ou água oxigenada.

No primeiro *godet*,sòmente se deve apreciar o aparecimento dum precipitado amarelo, que não modifica o seu aspecto com o tempo.

No segundo, não se deve dar modificação nenhuma.

No terceiro, deve aparecer uma côr azul, ao fim de poucos momentos.

Esta mudança de côr, isto é, o aparecimento da côr azul, deve obter-se, ou rapidamente, ou num curto lapso de tempo, e deve intensificar-se ao fim de segundos.

Verificada assim a bôa qualidade dos reagentes, podemos passar a usá-los com as soluções ou manchas suspeitas.

Se nós pudermos obter uma solução da mancha, faremos a reacção em tubo de ensaio, ou em *godet*, conforme a quantidade do solúto.

Se empregarmos os tubos de ensaio, devemos juntar a 1 centímetro cúbico da solução, 1 centímetro cúbico da tintura de gaiaco e esperar algum tempo, a vêr se se dão modificações importantes.

No caso de o líquido ficar só com um precipitadô amarelo, juntam-se então umas gôtas de água oxigenada.

Se houver sangue nêsse solúto, imediátamente aparece a côr azul, que se torna cada vez mais forte. Muitas vezes esta côr não é a primitiva, pois pode aparecer primeiro uma ligeira côr esverdeada.

Se, por termos pequena quantidade de solução, fizermos uso dos *godets*, nada mais teremos que modificar as quantidades dos reagentes, guardando contudo as mesmas proporções.

Em vez de centímetros cúbicos, fazemo-la com gôtas. Duas gôtas de soluto suspeito, duas de tintura e uma de água oxigenada.

É importante não modificar a ordem indicada no emprego dos reagentes, pois, como já se disse, a tintura do gaiaco só por si, não azula o sangue, mas azula muitas outras substâncias. No caso de o soluto suspeito azular com a tin-

tura de gaiaco, teríamos probabilidades de se não tratar de sangue, mas no entanto era preciso seguir os métodos, atrás citados, de Vitali e de Weber, para poder tirar uma melhor conclusão. O tempo de demora de aparecimento tem tambem uma grande importância. No caso de se tratar de sangue, este aparecimento é rápido, quasi imediato, poucos segundos depois, o máximo.

Se azular só ao fim de minutos, nenhuma conclusão se pode formular.

*

Taylor descreveu um método pessoal, para obter esta reacção com manchas, cujo suporte impedisse a sua solubilização. Trata-se de manchas sobre objectos metálicos, sobre madeira, cal, etc. Serve-se para isso de bom papel de filtro *Joseph*, o qual, previamente humedecido com água distilada, se aplica submetido a uma certa pressão, sobre a mancha suspeita. É preciso não molhar a mancha, não deitar água sobre ella, o que a dispersa, mas sim humedecer o papel que nós anteriormente podemos ter verifi-

cado como indiferente perante os reagentes que se vão empregar.

Depois de feita uma compressão, cujo tempo varía com a antiguidade da mancha, deitamos ainda pela mesma ordem, gôtas de tintura e água oxigenada. Se se trata de sangue, as manchas impressas no papel desenham-se a azul ao fim de momentos. Mesmo com manchas que sobre o papel deram impressões invisíveis, consegue-se várias vezes o aparecimento da côr azul.

Este método é excelente, pois alêm de poupar material, serve muitas vezes para descobrir pequeníssimas manchas, que não se podem observar directamente sobre os tecidos.

O novo processo de Lecha-Marzo, pelas impressões em películas, ou papeis fotográficos, dá o mesmo bom resultado.

Podemos até, no caso de pequena quantidade de solúto suspeito, fazer esta reacção sobre papel de filtro, dispensando assim o auxílio dos *godets*.

No caso de tecidos com manchas muito antigas, podemos fazer a compressão, que tem de sêr demorada, numa prensa de fotografia.

Binda dá de conselho que se observe o papel de filtro ao microscópio, podendo-se desta maneira verificar a presença da côr azul embora em quantidades minimas.

Otto Leers diz que o processo não traz vantagens. O que me parece útil é a sua verificação com o aparelho de Florence, com o que se descobrem sobre o papel, glóbulos de sangue.

Mas quando a côr azul não é nítida, então difícilmente podemos só com o auxilio desta reacção tirar alguns conhecimentos úteis.

Convem por ultimo dizer que o papel que se empregar, deve sempre ser préviamente experimentado, o que se consegue com facilidade, humedecendo-o com água distilada e deitando-lhes depois gôtas de tintura de gaiaco e água oxigenada.

Se o papel não azula, pode-se empregar então.

Embora pareçam coisas mínimas, todos estes conselhos, devem sêr bem observados, para que esta reacção possa dar alguma coisa de útil no diagnostico das manchas de sangue.

MODIFICAÇÕES DO MÉTODO DE VAN DEEN

As mais importantes modificações feitas a método referem-se, como já disse, ao agente oxidante. Enumerei a série de reagentes aproveitados, entre os quaes figura o de Hühnerfeld, que é talvez o melhor. Disse como êle se preparava e agora convem descrever o seu emprego. A reacção feita num tubo de ensaio é orientada da seguinte maneira: Juntam-se um centímetro cúbico de tintura de gaiaco, outro do reagente de Hühnerfeld e depois com o auxilio duma pipêta depositam-se lentamente dois centímetros cúbicos do soluto suspeito, de modo que se não misture com os reagentes. Se se trata de sangue, aparece um anel azul na zona de separação.

Shoer, usando tambem o liquido de Hühnerfeld, fá-lo actuar sobre um filtro, onde se depositou o precipitado obtido pela acção da tintura de gaiaco sobre o soluto suspeito.

São tudo modificações pessoais de pequeno resultado e mediocres vantagens práticas.

Hoje é uso corrente empregar-se só a água oxigenada, que dá os melhores resultados.

Além destas modificações, outras referentes ao processo de dissolução da mancha, obtiveram e conseguiram vantagens, que contribuiram para díminuir as causas do erro desta reacção. Já expûs os processos de Vitali, de Weber e de Willenz.

Siefert modificou o processo de Willenz, tornando-o complicadissimo.

Dissolve a mancha de sangue em 10 centímetros cùbicos de alcool a 96°, acidulado com dez gôtas de ácido sulfùrico. Evapora depois êste líquido em banho-maria. Alcaliniza com uma solução de potassa o residuo e filtra várias vezes.

Junta finalmente uma solução concentrada de cloreto de cálcio e faz com esta mistura a reacção de Van Deen. Julgou assim obter um grau de especificidade, pois destruia com êste processo as oxídases orgânicas, retinha os metais no filtro e decompunha vários corpos químicos, que por ventura estivessem na solução, mas afinal, Schütze e Ziemke mostraram que êste método não tinha nenhuma acção sobre os permanganatos, sulfato e cloreto de ferro e vários outros corpos que dão reacção de Van Deen positiva.

Em resumo, vê-se que todos estes métodos pouco ou nada adiantam, não tornando por isso mais específica a reacção O defeito está na reacção e não no modo de a fazer. ¿Como seria possível afastar as mil e uma causas de erro?

Esta, como varias outras reacções do sangue, devia sêr posta de parte, mas ainda hoje analistas, como Florence, a julgam preciosa.

Não dá, quando positiva, a certeza da presença do sangue e nem quando negativa a exclue. Com efeito, nós sabemos que alguns derivados da hemoglobina, o sangue putrefacto, sobreaquecido, etc., não dão reacção positiva.

Única e simplesmente tem um valor histórico. É uma reacção elegante que podemos experimentar, sem contudo confiar nos seus resultados.

Reacção de Kastle-Meyer Em 1903, isto é, dois anos depois do aparecimento do trabalho de Kastle, intitulado "*La phenolphtaline, reactif des ferments oxydants*,„ observou Meyer, quando estudava as propriedades oxidantes do pus, que o

sangue purulento dos leucémicos produzia uma oxidação enérgica da fenolftalina. Continuando com as suas experiências, Meyer conseguiu assim provar que o sangue normal tinha, quando em frente de pequenas quantidades de água oxigenada, as mesmas propriedades.

Meyer atribuia aos leucocitos as propriedades do sangue dos leucémicos.

Esta propriedade do sangue foi muito aconselhada por Albarran, para, no uso clínico, se descobrirem pequenas quantidades de sangue na urina.

Utz tambem em 1903 fez um largo estudo do reagente fenolftálico, concluindo que a reacção era positiva com outros corpos diferentes do sangue, tais como pus e substancias onde existissem leucocitos e fossem de origem animal. Benoit de Lille fez sobre este assunto um belo trabalho de observação meticulosa.

Diversas foram as aplicações desta reacção, embora em medicina legal tenha sido onde mais estudada e revista foi.

Levy — emprega-a para o diagnostico de hemorragias ocultas do aparelho digestivo.

Albarran, Puyl Blanc — para a pesquisa de quantidades minimas de sangue nas urinas.

Triboulet — para a pesquisa do sangue nas matérias fecais.

Vamos restringir porêm, as nossas observações ao campo médico-legal fazendo-as entrar no assunto proprio dêste trabalho.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

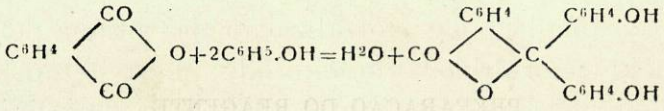
A redução da fenolftaleína pelo hidrogénio nascente, dá origem a um novo corpo, a fenolftalina, que dissolvida num solúto alcalino, constitúi próprianente o reagente de Kastle-Meyer.

A ftaleína do fenol em solúção, é usada em química analítica como reagente índicador. Todos nós sabemos que este solúto se torna roseo ou vermelho, quando se faz actuar sobre êle um álcali. Se este álcali é em excesso torna-o a descórar.

Adicionando-lhe uma solúção ácida, readquire a côr vermelha, que desaparece com excesso de ácido. O calor sobre estes solutos descórados por excesso de álcali, tem tambem uma influência interessante. Faz-lhes, enquanto quentes, retomar a côr, que desaparece de novo

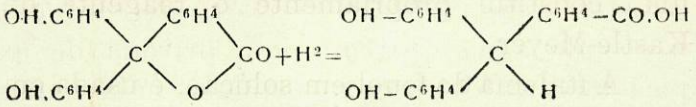
a frio. Adiante veremos a aplicação deste conhecimento.

A fenolftaleína obtem-se, fazendo actuar o anidrido ftálico sobre o fenol



anidrido fenol fenolftaleína

A fenolftaleína dá a fenolftalina pela acção do hidrogénio nascente



ftaleína do fenol ftalina do fenol

Este hidrogéneo nascente é produzido pela acção da potassa cáustica em soluto aquoso, sobre o zinco em pó.

$$In + 2KOH = In(KO)^2 + H^2.$$

Assim desta maneira se obtem um soluto alcalino de fenolftalina, donde em virtude da sua insolubilidade nos meios neutros ou ácidos,

se pode precipitar pela acção do ácido clorídrico forte. Filtrando depois, obtem-se um corpo sob a forma de grumos brancos.

Benoit — diz que este método tem inconvenientes, pois em virtude da alta temperatura ocasionada pela neutralização da potassa pelo ácido clorídrico, o precipitado que se obtem é uma mistura de fenolftaleína e de fenolftalina.

Evita estes inconvenientes, fazendo-a precipitar pouco a pouco com um solúto de ClH a 1 % e mantendo a solução de fenolftaleína numa mistura frigorífica de baixa temperatura. O precipitado, lava-o imediatamente num frasco de água distilada fria, privada de ar pela fervura e depois a filtragem fá-la numa atmosfera de azote. Assim obtem Benoit a fenolftalina, pó branco muito leve, solúvel sem còração em meio alcalino.

O oxigénio gasôso, o ar atmosférico não oxida a fenolftalina rápidamente, quando em solução alcalina.

Os oxidantes enérgicos, tais como os persulfatos, dão ao reagente uma côr vermelha, que indica a sua transformação em fenolftaleína.

A água oxigenada e a essência de terebin-

tina ozonizada não actuam de per si sós sobre a fenolftalina, mas sim quando em presença de corpos, tais como a hemoglobina.

É esta a causa de se empregar a fenolftalina em meio alcalino, como processo de pesquisa do sangue.

Para, finalmente, indicarmos como se deve preparar êste reagente, diremos que se pode aproveitar a fenolftalina em pó, dissolvida num soluto de potassa cáustica, ou então preparar o reagente partindo da fenoltaleína do comércio.

Êste segundo método é muito de aconselhar, pois alêm de mais seguro (1), fica sempre em boas condições de utilização. Acrescente-se que não se encontra fácilmente á venda a fenolftalina. Hoje a casa Kahlbaum, de Berlin, tem entre os seus inumeros produtos uma fenolftalina muito pura.

Benoit aconselha-a, dizendo-a duma grande estabilidade.

---

(1) Só ainda ha pouco tempo é que se pode obter ftalina do fenol pura. Hoje, tendo-se bôa fenolftalina, o primeiro processo é mais cómodo e mais seguro.

As proporções em que deve ser dissolvida diferem segundo os autores.

Kastle dissolvia cinco centigramas de fenolftalina em dez centímetros cúbicos de solução fraca de soda cáustica. Meyer usava o mesmo reagente.

Benoit emprega-a na seguinte formula:

Fenolftalina pura — 1 grama.
Solúto de potassa cáustica a 10 % — 140 c. c.

Benoit aumentou muito a percentagem de álcali, fundando-se nos seguintes factos:

1.º *estabilidade do reagente.*

Esta estabilidade é realmente aumentada, quando o álcali está um pouco em excesso, porque impede a oxidação lenta da fenolftalina ao contacto do ar, mas julgo que tambem torna o reagente menos sensível, pois, como se sabe, o álcali em excesso descora a fenolftaleína, que por ventura se forme em pequenas quantidades. Como se vê, se por um lado há vantagens, tambem o método de Benoit diminúi um pouco a sensibilidade do reagente.

E sendo esta oxidação muito lenta, bastaria, para isso usar sempre o reagente feito na ocasião.

2.º *diminuição, ou aniquilação de certos fermentos solúveis.*

Segundo Duclave, a acção dêstes fermentos é entravada pelos álcalis cáusticos.

3.º *transformação de diversos derivados da hemoglobina em hematina alcalina, que dá uma bela reacção.*

Benoit, alêm disso, substituiu a soda por potassa, porque esta torna a reacção mais enérgica e mais duradoira.

Ora, como já atrás disse, não é facil obter-se a fenolftalina da casa Kahlbaum, em todas as localidades, de maneira que se torna muito útil o saber preparar o reagente, partindo da fenolftaleína.

É bem certo que o reagente preparado com a fenolftalina pura, é mais límpido e fica isento de saís metálicos, mas nós podemos prepará-lo, partindo da fenolftaleína, de maneira

a poder servir bem para as pesquísas médico-legais.

Benoit aconselha o uso da seguinte formula:

Ftaleína do fenol	— 2 gramas
Água dístilada	— 100 c. c.
Potassa cáustica	— 20 gramas
Pó de zinco impalpável	— 10 „

Numa garrafa de Erhenmeyer, lança-se a potassa cáustica, dissolvendo-a nos 100 centímetros cùbicos de água distilada.

Esta dissolução faz-se com o auxílio do calor. Deve-se fazer este reagente nas garrafas de Erhenmeyer, porque, pelo seu formato cónico, evitam que a espuma que se fórma no decorrer da operação, se escape pela tubuladura.

Feita a dissolução da potassa, deita-se o pó de zinco e espera-se que o soluto entre em ebulição e haja desprendimento de bolhas gasosas. Só então se lança a fenolftaleína pouco a pouco. Usei sempre a fenolftaleína previamente dissolvida em alcool a 95º. Lançava-a na garrafa por intermedio dum frasco conta-gôtas, pouco a pouco e de maneira que

caísse directamente no meio do liquido, sem tocar as paredes. Benoit dá de cônselho que se lance com o auxilio de um cartão dobrado, mas deste modo ha o inconveniente de deixar aderir a fenolftaleína com facilidade, á tubuladura da garrafa, desviando-a assim do hidrogénio redutôr.

A fenolftaleína dá ao solúto de potassa uma côr vermelho-vinosa. No fim de certo tempo, que Benoit diz ser de cinco minutos, mas que na realidade sempre me passou de 10 minutos e ás vezes muito mais (15 e 20 minutos), todo o solúto se descora, ficando absolutamente límpido. É preciso durante esta operação, regular com cuidado o calor, porque o soluto com facilidade irrompe da garrafa.

Se ao deitar a fenolftaleína, se deixa por descuido ficar alguma parcela no gargalo, é preciso lavá-lo com água distilada, por meio dum jacto de pipêta. Retirado o soluto do fogo, a espuma formada, que muitas vezes ao contacto do ar se oxida dando côr vermelha, desce, misturando-se com a solução e descora-se em absolúto.

Decanta-se uns momentos e passa-se a solução para um frasco de vidro de gargalo

largo e bem sêco. Parafina-se a rolha, se é de cortiça, mas o melhor é usar rolhas de borracha, que fazem uma vedação completa. É preciso notar que o volume do soluto deve ser levado depois da operação, ao seu volume primitivo, usando-se para esse fim água distilada, á qual se expurgou o ar, por uma ebulição prolongada. Convêm depois cobrir o reagente com uma bôa camada de oleo de vaselina. Muitos autores aconselham que se deixe ficar algum pó de zinco no fundo do frasco.

Quando se quiser retirar reagente para as experiências, deve-se fazê-lo com pipetas muito limpas. O reagente é nos primeiros momentos, um a dois dias, incolor. Ao fim deste tempo começa-se a tornar amarelo, mas está ainda bom para o uso. Assim, com os cuidados expostos, o reagente conserva-se por muito tempo em bom estado. Podemos dizer mesmo que é utilizável por mêses.

Para a confecção deste reagente, deve-se empregar sempre fenolftaleína, potassa e zinco de bôa qualidade. O zinco deve ser em pó impalpável, que alêm de se misturar muito melhor com o solúto, tem uma acção muito mais rápida.

A limalha de zinco em pó grosso não deve ser utilizada.

Em geral, os dez gramas de pó de zinco são suficientes, mas casos há, que naturalmente se explicam pela impureza do zinco ou pela sua menor divisão, em que é preciso, a meio da operação, deitar mais dois ou tres gramas de pó de zinco. Êste pode ser substituido por aluminio, ou magnesio em pó. Com o magnesio a reacção faz-se a frio.

Benoit diz que o reagente assim preparado se conserva incolor durante anos. Apezar de sempre tomar todas as precauções indicadas, os meus reagentes tornavam-se amarelo-castanhos ao fim de algum tempo. Muitas vezes com a acção do tempo, o reagente pode tornar-se levemente roseo. Neste caso uma nova ebulição com pó de zinco torna-o incolor.

*
* *

O reagente assim obtido tem uma densisidade que varía entre 1020 a 1023. É inodoro, tem um sabor extraordinariamente desagradável e cáustico, o que aconselha uma prudente

aspiração com as pipêtas. Não dá, nem com a água distilada, álcool ou glicerina, qualquer mudança de côr, ou precipitado.

Misturado com um soluto sangùíneo não muda de côr, nem forma precipitado. Junto tambem só com a água oxigenada, ou essência de terebintina ozonizada, não sofre modificação, mas torna-se imediatamente vermelho, ou roseo, quando se junta com sangue e água oxigenada. É neste facto que se funda esta reacção.

A hemoglobina, em presença dum corpo rico em oxigénio e instável, retem-no, para logo depois o ceder a fenolftalina, transformando-a em fenolftaleína, que, como está em meio alcalino, dá a coloração rosea, ou vermelha.

A hemoglobina goza portanto da propriedade de ser transportadora de oxigénio, cedendo-o facilmente a corpos de oxidação tambem fácil, como a fenolftalina.

Há um facto importante e que merece ser discutido. O sangue fresco, acabado de retirar dum organismo vivo, tem a propriedade de oxidar directamente a fenolftalina, sem o concurso da água oxigenada.

Meyer atribúi esta qualidade, ou antes

esta propriedade, aos leucócitos. Sangue que não tivesse pelo menos 19.000 leucócitos por milímetro cúbico, não seria capaz de dar a oxidação, sem o concurso dum peróxido. Numerosas experiências demonstraram, porêm, que este facto era independente da riqueza do sangue em leucócitos. O que parece, é que este fenómeno esteja ligado com a presença da oxi-hemoglobina no sangue. Sangue antigo, um pouco putrefacto já, não dá de por si só a reacção de Kastle-Meyer.

Sangue que sofreu a acção duma temperatura de 90 a 100 graus, tambem perde esta propriedade.

Benoit sustenta que os compostos oxigenados do sangue fresco actuam como verdadeiros peróxidos.

De mais a mais, a experiência provou que, com pequeníssima quantidade de água oxigenada se pode obter uma reacção franca.

Assim, uma gôta de solúto de água oxigenada a 10 volumes e a $^1/_{10000}$ dá ainda uma reaccção nítida com sangue a $^1/_{1000000}$.

Ora, uma tão pequena quantidade de água oxigenada não pode, sem o concurso dos compostos oxigenados do sangue, dar uma oxida-

ção suficiente para tornar a reacção nítidamente positiva.

Todos êstes fermentos, como a catálase, a hémase, que foram trazidos por diversos autores para explicarem a reacção, afinal nada explicam, porque sangue aquecido a cem graus dá, depois de frio ainda uma reacção positiva. Ora a esta temperatura os fermentos são destruidos.

Ainda depois vieram os fermentos metálicos, ferro, manganés, em ínfimo estado de divisão. Como se verifica, os metais coloidais dão positiva a reacção de Kastle-Meyer.

Ora os trabalhos de Cardan, Boussingault e Pelouze mostraram á evidência a presença de bastante férro no sangue humano.

Em média, encontraram êstes notaveis investigadores, por indivíduo, três gramas de ferro.

Wurzer descobriu o manganés no sangue. — Duclaux, referindo-se a êstes factos, diz que esta reacção é principalmente devida, não á matéria orgânica, mas á mineral, que funciona como uma diástase.

Benoit considera que a hemoglobina, nesta reacção, actua como um agente catalítico metalífero.

A hemoglobina deve a sua propriedade ao ferro e manganés da sua molécula, os quais se encontram num estado coloidal.

Funda-se a sua hipótese nos seguintes dados:

1.º O poder oxidante indirecto do sangue não está ligado á integridade da sua hemoglobina. Aparece tambem com a hemoglobina reduzida, met-hémoglobina, hematima e hemocromogénio.

2.º A reacção desaparece, quando se eliminam os elementos metálicos pela acção dos ácidos concentrados, o ácido sulfúrico, por exemplo, que transforma a hematina em hematoporfirina (hematina sem ferro).

3.º A clorofila, pigmento proximo da hematoporfirina, e que tambem não tem ferro, não dá a reacção de Kastle Meyer.

TÉCNICA DA REACÇÃO

Dissolvida a mancha, ou diluido o liquido suspeito em água distilada, recolhem-se num tubo de ensaio um ou dois centimetros cubicos do solùto. Com uma pipêta retira-se o reagente do frasco sem que toque ao sahir no gargalo, e

mistura-se aproximadamente um centímetro cùbico do reagente com um centímetro cúbico do soluto suspeito, num tubo de ensaio. Não deve haver modificação alguma na côr, no caso de se tratar de sangue que não seja absolutamente novo, isto é, colhido dum indivíduo, na própria ocasião do exame.

Depois, com uma nova pipêta, deitam-se uma ou duas gôtas de agua oxigenada a 10 volumes.

Imediátamente, aparece uma côr rosea, que se vai tornando cada vez mais intensa, adquirindo o seu máximo de intensidade no fim de um minuto, quando no soluto haja sangue. Nas manchas feitas em tecidos brancos, podemos tentar a reacção no proprio pano, ou então proceder de igual forma á que se usa nas impressões de Taylor (1).

É de boa regra experimentar primeiro o papel de filtro. Em algumas das minhas experiências, notei que papéis de filtro há que avermelham o reagente de Kastle-Meyer. Pre-

(1) Este método é um pouco delicado, porque o reagente oxida-se fácilmente ao contacto do ar.

cauções devemos tê-las e todas serão poucas, para se fazer um diagnóstico seguro. O calor altera o reagente. É preciso que o líquido suspeito seja examinado a uma temperatura inferior a 30°. Quando tenhamos feito a reacção a essa ou a temperatura superior, devemos esperar um momento, até arrefecer. Quando a côr aparecer só em virtude da temperatura, desaparece tambem com o arrefecimento.

É preciso tambêm que o soluto empregado e a própria água oxigenada não tenham reacção ácida, que poderia mascarar, ou fazer desaparecer a côr rosea. Para evitar êste inconveniente, devemos alcaliniza-los com amoníaco, ou potassa cáustica.

A reacção para ter valor deve ser positiva imediátamente, ou passados alguns segundos.

Quando aparece tardiamente, não tem valor algum, para qualquer conclusão.

SENSIBILIDADE DE REACÇÃO

De todas as reacções còrantes do sangue, sem dúvida a mais sensível é a de Kastle Meyer. Benoit com sangue humano fresco, conseguiu obter reacção apreciavel até $^{1}/_{1000000}$.

O autor confessa que nêste gráu de diluição, a côr rosea é extremamente fugaz, e que só se torna perceptível sobre fundo negro. Nas minhas experiências, fiz diluições de $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$, $^1/_{10000}$, $^1/_{100000}$, $^1/_{200000}$, $^1/_{300000}$, $^1/_{400000}$, $^1/_{500000}$, $^1/_{600000}$, $^1/_{800000}$, $^1/_{1000000}$. A sensibilidade da reacção é nítida até $^1/_{200000}$. Depois desta diluição, torna-se muito ténue e a partir de $^1/_{500000}$ julgo quási impossível obter uma coloração suficiente. Talvez que o defeito estivesse em empregar o reagente obtido com a fenolftaleína e não feito com a fenolftalina pura. Mas seja como fôr, $^1/_{500000}$ é já uma diluição enorme, que na prática não temos necessidade de ultrapassar. Obtemos sempre soluções mais concentradas.

Se com uma mancha, não se pudessem obter senão diluições tão elevadas, tambem de nada serviria a reacção, porque de per si só não nos dava a certeza da presença de sangue, e com diluições de $^1/_{5\,0000}$ não se obteriam as verdadeiras reacções do sangue, que nos dão um diagnóstico seguro.

Com sangue fresco, diz Benoit que a sensibilidade da reacção pode ir até $^1/_{20000000}$. Não pude, como já disse, observar este prodigio de sensibilidade.

ESPECIFICIDADE DA REACÇÃO

Infelizmente, esta, como as outras reacções oxidantes do sangue, peca por pouco específica. Numerosos são os corpos que a dão positiva e todos os métodos para desviar as causas de erro, teem sido improfícuos.

Nos produtos de origem animal, esta reacção é mais específica que a de Van Deen, mas no reino mineral existem numerosos corpos que a dão positiva.

A saliva, não dá a reacção de Kastle usualmente. Numa série de experiências que fiz em dias variados, consegui por várias vezes obter uma reacção positiva. ¿ Seria devida a pequenas partículas alimentares, ou a porções reduzidas de sangue vindo das gengivas? Benoit explica desta maneira a positividade da reacção com a saliva.

O pus colhido sem mistura de sangue (punção dum abcesso frio com termo-cautério), não da reacção positiva.

Com o pus duma uretrite blenorrágica, consegui obter reacção nítidamente positiva e o exame microscópico não denunciava a presença de glóbulos rubros.

O leite não dá tambem reacção positiva, a não ser o leite tirado na mulher, por meio de bombas de aspiração. É muito provável que venha algum sangue de mistura.

Esta reacção é nêste ponto superior á de Van Deen, que com êstes produtos dá sempre reacção positiva.

No reino vegetal aparecem muitos produtos que tornam positiva a reacção de Kastle-Meyer.

As batatas, as farinhas de trigo, centeio, a maior parte de cereais, a goma arábica dão reacções positivas, aparecendo uma côr roseá alvacenta.

Com as batatas, a reacção é muito franca e imediata.

Já a goma arábica dá uma reacção muito lenta e fraca, que de maneira nenhuma se confunde com a dada pelo sangue.

A clorofila não dá reacção positiva.

Como já atrás referi, a clorofila não tem ferro na sua molécula. (1).

(1) O espinafre, que tem grande quantidade de ferro não dá a reacção de Kastle-Meyer. Daqui se vê que não se pode atribuir ao ferro todo o poder oxidante dos vegetais.

Todos êstes produtos de origem vegetal perdem a propriedade de dar uma reacção positiva, quando levados a uma temperatura de 100 gráus.

É que actuavam pela presença de diástases que são destruidas entre 80 e 100 gráus. Basta, pois, ferver durante alguns minutos o líquido suspeito, para se excluir a acção das diástases.

Entre os produtos químicos, há um certo número que dá a oxidação do reagente, sem o intermédio da água oxigenada. Outros comportam-se única e exclusivamente como o sangue.

Oxidam directamente o reagente:

Persulfatos alcalinos
Ferrocianeto de potássio
Peróxido de chumbo
Peróxido de ósmio

Nas minhas experiências, só pude, dêste grupo, observar as reacções com os ferro — e ferricianetos de potássio.

A reacção é muito mais rápida com o ferricianeto. Pode considerar-se mesmo instantânea.

Com o ferrocianeto, embora seja muito nítida, é contudo mais lenta,

Não são, pois, muito fáceis de confundir com o sangue, porque êste só actua em presença da água oxigenada.

É no grupo seguinte que existem analogias no modo de actuar, mas as diferenças são, no meu modo de vêr, muito nítidas.

Oxidam o reagente, com o auxilío de água oxigenada:

Sais de cobre
Bicarbonatos alcalinos
Sulfato de magnésio
Bromêto de potássio

Entre outros, dos sais de cobre, servi-me do sulfato, que dá uma reacção muito singular e que merece ser descrita.

Se deitarmos um pequeno cristal de sulfato de cobre num tubo de ensaio, com metade de água distilada, observamos, quando juntamos o reagente de Kastle-Meyer, a formação de um prcipitado azul escuro, denso, ocupando o fundo do tubo. Quando depois lhe juntamos a água oxigenada, êste precipitado passa a flocoso verde-garrafa e no fim de 3 a 4 segundos, a vermelho. Muitas vezes, no tubo fica um preci-

pitado flocoso de côr de vinho, que ocupa o fundo e a superficie do tubo de ensaio, deixando no seu intervalo um líquido transparente e vermelho.

Agitando, e deixando repousar um dia, todo êste precipitado se acumula no fundo do tubo de ensaio.

Com a essência de terebintina, não dão reacção os sais de cobre.

Com os bicarbonatos, como o de sódio, a reacção é nítida e rápida, principalmente se o reagente é antigo.

Reagente recente não dá reacção com os bicarbonatos. Com o sulfato de magnésio, a reacção é lenta. Quando se lança o reagente de Kastle Meyer, forma-se um precipitado flocoso, branco, que, pela adição de água oxigenada, toma lentamente uma côr rosea.

Com os bromêtos de potássio e de sódio, a reacção é fraca e lenta.

*
* *

Esta reacção de Kastle Meyer embora não específica, quando se lhe dedique toda a

atenção, consegue definir se se trata ou não de sangue, porque a reacção com este ultimo, muito mais rapida e nitida, não forma precipitados, e tambem se pode fazer com a terebintina ozonizada.

Sendo de todas as reacções còrantes a mais sensível, chega a ser imprópria para as pesquisas médico-legais, pois segundo Dervieux, "a sua extrema sensibilidade ultrapassa os limites duma reacção puramente electiva do sangue„.

Mas o facto é que, embora muitos compostos deem a reacção de Kastle-Meyer, há sempre uma possibilidade de os distinguir, em muitos casos, do sangue. É indubitávelmente superior á reacção de Van Deen, porque é mais específica do que esta.

Sabemos que os compostos que tem oxídases, podem dar esta reacção, mas sabemos tambem que pela ebulição, esta causa de erro será posta de parte.

A saliva, o leite cru, o suco gastrico, o esperma, o muco nasal, podem por esta razão dar um Kastle-Meyer positivo. Acresce ainda a grande possibilidade de êstes productos poderem arrastar pequenas quantidades de sangue. Neste caso, a fervura, a temperatura mes-

mo a 100.º não destruia a positividade da reacção.

O sangue em qualquer estado (salvo em solutos ácidos), dá sempre reacção positiva. A hemoglobina e qualquer dos seus derivados, exceptuando a hemato-porfirina, comportam-se sempre de maneira a dar uma reacção nítida.

Dervieux obteve reacção positiva com sangue de 26 anos.

Nas minhas experiências, obtive o mesmo resultado com um macerado duma peça mumificada e existente há largos anos no museu de anatomia patológica da nossa Faculdade.

O calor muito prolongado não impede a reacção positiva do sangue.

Auctores, como Benoit e Baltazard, conseguiram uma reacção positiva com sangue calcinado. Labat afirma que se a calcinação é completa, a reacção nunca é positiva. Dervieux e Leclercq fizeram sobre êste assunto, largas experiências, calcinando ossos, musculos, fetos inteiros e verificaram que, quando a calcinação é completa, a reacção é absolutamente negativa.

Os álcalis e os ácidos (excepto SO^4H^2) não tem efeito nenhum sobre o resultado final

da reacção, quando depois se opere em meio francamente alcalino.

A ferrugem, a terra, a clorofila não dão reacção positiva, mas sim os bicarbonatos alcalinos e várias águas minerais. Benoit demonstrou com experiências que esse facto só se dava quando o reagente estava alterado pelo longo contacto com o ar.

*
* *

Para obstar ás diversas desvantagens dêste método, propuseram-se várias modificações, mas de pouco interesse médico-legal. Sarda, verificando que o sangue em soluções concentradas dava uma reacção pouco enérgica, ou mesmo nula, aconselha as seguintes modificações. A três centímetros cúbicos da solução que pretende examinar, junta-lhe um volume egual de álcool acético.

Ácido acético crist. — 2 c. c.
Álcool a 90.° — 98 c. c.

Depois de agitar alguns momentos, procede então á reacção de Kastle-Meyer.

Assim e por intermédio do álcool acético, dilúi e destrúi os glóbulos rubros, pondo em liberdade a hemoglobina.

Balthazard aconselha que se opere, nos casos difíceis e duvidosos, da seguinte maneira: "Dissolva-se a mancha numa pequena quantidade de água, leve-se á ebulição e divida-se depois o soluto por dois tubos de ensaio. Num, tente-se a reacção de Kastle-Meyer, noutro a de Adler com a benzidina„. A reacção de Adler, sendo negativa com os sais de cobre, deve servir de verificadora da de Kastle-Meyer, quando a mancha esteja sobre um suporte metálico de cobre.

Foi esta a única modificação útil aparecida, mas mesmo assim, é preciso considerar que a reacção, com os sais de cobre, é bastante diferente da do sangue.

*
* *

Em resumo, podemos verificar que, embora esta reacção tenha vantagens sobre a reacção de Van Deen, pois alêm de ser um pouco mais específica, é mais viva, mais visí-

vel e consente a preparacão mais antecipada do reagente, entra, como outras, no grupo das que únicamente podem dar ao médico legista um sinal de probabilidade, ou possibilidade e nunca uma certeza absoluta.

Casos há, em que mêsmo tratando-se de sangue, a reacção é negativa, pois, devemos lembrar-nos do sangue calcinado, tendo sofrido a acção do ácido sulfúrico, ou do sulfidrato de amónio. Êste ultimo composto altera por completo a fenolftalina, sulfurando-a.

Não é, pois, sobre o sangue que o sulfidrato de amónio vae exercer a sua acção impedidora. Quando se tenta, por meio do persulfato de amónio, oxidar a fenolftalina, o sulfidrato de amònio impede, com a sua presença, esta reacção.

São várias as causas de erro, mas o médico legista pode tomar algumas precauções, que lhe desviem conhecidos erros de diagnóstico.

Deve, segundo julgo, verificar se o soluto suspeito é ou não alcalino.

No caso de dar reacção ácida, devemos neutralizá-lo com a potassa cáustica. Não se deve tambem desprezar a acção do calor. O soluto

suspeito deve-se ferver, a fim de eliminar a presença de catálases e oxídases.

Reacção da fluoresceína È devida esta reacção aos trabalhos de Fleig sobre as ftaleínas e seus derivados. É uma reacção còrante que apresenta desvantagens, como todas as outras, e que em nada veio beneficiar o problema médico-legal. Muito embora Fleig diga que, debaixo do ponto de vista de sensibilidade, esta reacção seja mais apurada que a de Kastle-Meyer, Dervieux é o primeiro a afirmar que não. A fluorescência que se obtem com soluções muito diluidas, é muito mais difícil de examinar que a coloração rosea do reagente de Kastle-Meyer. Alêm disto, é um reagente absolutamente instável. Nunca consegui utilizá-lo por mais de dois a três dias, apesar de ter tomado todas as precauções, para evitar a sua oxidação. Conservado com uma camada protectora de óleo de vaselina, livre do contacto do ar, em frascos bem parafinados e fóra da acção da luz, nem assim mesmo se mantinha em bom estado. Não se podia atribuir este defeito á má qualidade da fluoresceína, pois sempre a usei

de origem, da casa Cogit. Apresentava rápidamente fluorescência, de maneira que não podia ser utilizado com segurança. Verdade é que aquela augmentava muito com as soluções sangùíneas, pouco diluidas, mas como digo, é um reagente extraordinàriamente instável. Estando alguns minutos em contacto com o ar, mêsmo ainda na pipêta de que me utilizava, obtinha em breves momentos um aumento muito sensivel da fluorescência. Não tem nada de específica, dá lugar aos mesmos erros e desconfianças que o reagente de Kastle-Meyer e com soluções ácidas, como as de ácido acético, dá uma forte fluorescência. Nenhumas vantagens tem sobre as outras reacções descritas. É de uma preparação difícil, e de uma conservação impossível.

O mecanismo desta reacção é absolutamente idêntico ao de Kastle Meyer. Para a sua preparação, é preciso usar das mesmas precauções que se usam ao fabricar o reagente de Kastle-Meyer.

Tambem nêste caso se reduz a fluoresceína pelo hidrogénio nascente. Este ultimo é obtido, fazendo actuar o zinco em pó fino, a quente, sobre uma solução de potassa.

Pode-se substituir o zinco por aluminio, ou manganés em pó. Numa garrafa de Erhen-Meyer lançam-se cem gramas de soluto de potassa a 20 %. Quando estiver em ebulição, junta-se o pó de zinco pouco a pouco e logo que se comecem a desenvolver bolhas gazosas de hidrogénio, com todo o cuidado e com o auxílio dum cartão dobrado, deitam-se 0,25 gramas de bôa fluoresceína.

A mistura fica verde, mas no fim de um certo tempo, dez a quinze minutos, a descòração é completa. Imediátamente se deve decantar e passar para um frasco de largo bocal, tendo o cuidado de lançar algum pó de zinco no fundo. Rectificam-se com água destilada e fervida, os cem centímetros cúbicos e cobre-se o líquido com oleo de vaselina.

Tapa-se com rolha de borracha, ou rolha de cortiça bem parafinada e quando se fizer uso do reagente, deve-se retirar com o auxílio de uma pipêta bem limpa e sêca.

A formula do reagente é pois:

Soluto de potassa a 20 %	— 100	gramas
Pó de zinco	— 10	„
Fluoresceína	— 0,25	„

Este reagente oxida-se, com uma facilidade assombrosa, ao contacto do ar.

Quando na sua fabricação se acaba de descòrar o reagente, é preciso acondicioná-lo no frasco próprio, muito rápidamente. Várias vezes, uma pequena demora de minutos, foi o bastante para produzir uma oxídação bem visível. De novo o levava á ebulição com uma nova e pequena quantidade de pó de zinco, descòrando-se então mais rápidamente.

Como se pode bem depreender, êste reagente é mesmo perigoso, pois o contacto com o ar enquanto está na pipêta, é suficiente para o oxidar.

A técnica da reacção é das mais simples.

Tudo se reduz a lançar umas gôtas de reagente em 1 centímetro cúbico do soluto a examinar e juntar depois uma gôta de água oxigenada a 10 volumes. Se se trata de sangue, aparece imediátamente uma maior ou menor fluorescencia, correspondente á quantidade de sangue do soluto.

A flluorescência deve aparecer muito rápidamente, para a reacção ter algum valor, o máximo dentro de segundos e não minutos, como Dervieux assegura. Deitando êste reagente em simples água distilada observei, muitas

vezes, no fim de dois ou três minutos, uma verdadeira fluorescência.

Sujeita como está a graves erros, esta reacção só tráz perigos e desvantagens para os analístas.

Reacção de Bourquelot Esta reacção, que pouco valor tem, porque é difícil de obter no caso de manchas antigas, é fundada na mudança de côr que sofre o sangue das manchas, quando sobre elas se faz actuar uma gôta de água gaiacolada e outra gôta de água oxigenada. O reagente, fácil de obter, consegue-se dissolvendo 1 grama de gaiacol em 100 centímetros cúbicos de água distilada. Agita-se durante algum tempo com uma vareta, de modo a tornar a solução o mais perfeita possivel. O sangue torna-se nesta reacção vermelho castanho escuro.

Entre varias desvantagens deste método, verifiquei:

1.º que é difícil de observar em sangue muito velho, pois a mudança de côr obtida não é distinguível.

Como se sabe, as manchas velhas têm uma côr semelhante á produzida nesta reacção.

2.º que a água oxigenada, que se usa nesta reacção, vem, pela producção de bolhas gasosas mascarar completamente a mudança de côr.

Em solutos sangùíneos, mais difícil se torna a sua observação. Ainda assim, obtive-a positiva com sangue de 1, 6 e 8 mêses.

Em sangue levado a 60º e 120º, mostrou-se absolutamente negativa.

Mêsmo nos solutos, é mais flagrante a reacção da água oxigenada, do que a reacção de Bourquelot. A água oxigenada actua nêste reagente como actuaria, quando empregada só.

Não é pois, uma reacção de escolha. No grupo das reacções còrantes, é das mais inferiores. É visível em manchas, ou solutos muito recentes, principalmente em todos aquêles que conservem ainda a côr rosea da oxi-hemoglobina. Só nêstes casos se pode apreciar com grande nitidez. A titulo de curiosidade a cito, e só essa razão me levou a descrevêl-a.

Reacção do ácido pirogálhico — Uma solução fraca de ácido pirogálhico em água dístilada, cora de pardo no fim de dois a três minutos, com máximo de intensidade no fim de dez, as

soluções sangùíneas. É preciso empregar ácido pirogálhico puro e que não esteja amarelecido pelo tempo.

O reagente não se conserva quási tempo nenhum, ganhando ao fim de horas uma côr acastanhada. Tem de ser preparado na ocasião de se usar. Quando perfeito e utilizável, é absolutamente incolor.

Como a reacção anterior, esta é muito pouco apreciável em manchas antigas.

A razão disto é fácil de compreender. Sendo pardas as manchas antigas, ou os seus solutos, o ácido pirogálhico só pode escurecê-las um pouco, o que se avalia confrontando com manchas, ou solutos testemunhas. A reacção deve ser rápida. Quando apareça no fim de $^1/_2$ ou 1 hora, não tem o menor valor. Nas experiências a que procedi, verifiquei que só era muito nítida em manchas recentes e em solutos muito concentrados. Em sangue recente e sêco em láminas de vidro, pode-se observar com precisão. Absolutamente negativa com sangue fervido, ou aquecido a 60º e 120º é, contudo, apreciável em manchas de 1 mês, e 6 mêses.

Não a pude obter com manchas de 8 mêses e que tinham sido insoladas.

Esta reacção é muito pouco específica.

Numerosos são os corpos, quer da química mineral e orgánica, quer de origem animal, que se tornam pardo-escuros com o ácido pirogálhico. Não deve ser usada, pois alêm de não ser positiva, até em casos de sangue bem averiguado, seria uma causa de infinitos e perigosos erros. Como aparece citada por varios autores, tambem a experimentei e a estudei e por essa razão a ela me refiro, embora convencido da sua inutilidade. Esta reacção observa-se, quando se procuram obter cristais de hemocromogénio em meio acidulado pelo ácido pirogálhico (Lecha-Marzo).

Reacção da benzidina (de Adler) Extrêmamente sensível, esta reacção é uma das mais elegantes que se podem obter com soluções sangùíneas, mesmo muito diluidas. Devida aos trabalhos de Adler, de quem conserva o nome, foi aplicada á medecina legal por Merkel, Bordas e Macweeney.

Data de muito poucos anos esta sua aplicação, pois Adler só em 1904 a descreveu e a aconselhou em pesquisas de ordem clínica.

Pode êste reagente ser preparado por várias formas e maneiras. Autores o preparam, saturando o álcool a 95º pela benzidina, outros fazem a substituição do álcool pelo ácido acético. Altera-se rápidamente, tendo que ser preparado na ocasião do seu emprego, e requer uma benzidina pura, muito branca. Schumm observa que os médicos legistas devem requisitar benzidina própria para esta reacção, porque não se obtem fácilmente o mesmo efeito, com a maior parte da benzidinas do comércio. A benzidina da casa Cogit, por mim experimentada, dá com toda a segurança esta reacção.

O ácido acético, segundo a opinião de muitos analistas conserva incolor o reagente, mas tendo preparado soluções alcoólicas e acéticas, verifiquei que ambas se còravam ao fim de horas, dando um líquido turvo e amarelo-escuro. Fiz uso da formula seguinte, preparando-a no momento das observações:

Benzidina	— 1	grama
Álcool a 90.º	— 30	„
Ácido acético glacial	— 20	„
Perborato de sódio	— 5	decigramas

Esta formula tem a vantagem de poder prescindir da água oxigenada. No acto da reacção, o perborato de sódio fornece o corpo oxigenante, a água oxigenada.

Dervieux e Leclercq anunciam que há hoje á venda, pequenas pastilhas de perborato de sódio e benzidina doseadas a um decigrama de cada uma destas substancias e que se dissolvem na ocasião do seu emprego, em dez centímetros cúbicos de acído acético glacial (1).

Mas não ha necessidade absoluta do perborato de sódio, porque a reacção produz-se com a essência de terebintina ozonizada, ou com água oxigenada.

A técnica da reacção muda, conforme os autores. Se tivermos bastante quantidade de solução suspeita, fazemos a reacção em tubos de ensaio. A um centímetro cúbico do soluto a examinar juntamos 1 centímetro cúbico do reagente. Havendo sangue, com grande rapidez todo o líquido toma uma côr esverdeada, que se

(1) *Embora as tenha requisitado á casa Cogit, não as encontrou esta á venda. Contudo são faceis de fazer e aqui mesmo se poderiam fabricar.*

modifica passando a azul escuro e mais tarde a castanho. Usando a formula acima citada, dispensa-se a adição da água oxigenada. Quando a quantidade de liquido suspeito é diminuta, faz-se a reacção numa pipêta, cuja ponta seja capilar e longa. Aspira-se uma pequena porção do liquido e a seguir o reagente já com o perborato de sódio, ou água oxigenada. No ponto de separação dos dois líquidos, vê-se um anel opalino branco que se torna esverdeado, com tendencia a azular, se no líquido existe sangue (Ascareli). Macweeney faz actuar directamente a benzidina oxigenada sobre fragmentos da mancha suspeita.

Ultimamente, apareceram uns papeis de benzidina, os quais são usados como reagentes do sangue. Não são úteis em medicina legal, porque a benzidina adultera-se facilmente e dêste modo, poderia dar origem a erros gravíssimos. Esta reacção presta-se para sêr feita em manchas transportadas para papel de filtro e obtem-se nitidamente em manchas impressas em películas e papel fotográfico, pelo processo do professor Lecha-Marzo. Quando tivermos manchas pequenas e sobre panos escuros, onde dificilmente são visíveis, podemos torná-las sa-

lientes, usando papel de filtro enbebido numa solução de benzidina, aplicado fortemente sobre o tecido. Ao fim de algum tempo de contacto, retiramo-lo e borrifamo-lo com água oxigenada. Nos pontos correspondentes ás manchas de sangue, aparece uma côr esverdeada.

A sensibilidade desta reacção é notável. Com um soluto, resultante da maceração duma peça de anatomia patológica, datando de muitos anos e conservada pelo processo de mumificação, ainda obtive reacção nítidamente positiva, mais nítida do que a obtida com o reagente de Kastle-Meyer.

Com manchas de 1 até 8 mêses de idade, abandonadas durante êste prazo á acção destruidora do tempo, obtive em diluições fraquíssimas, reacções muito positivas.

Manchas insoladas, aquecidas a 120°, sangue em diferentes estados de putrefacção, deram sempre reacção muito nítida. Esta infelizmente não é específica. O pus, o suco de varios frutos, a batata, os espinafres, a pêra, dão uma reacção positiva. Notei, todavia, que esta reacção é mais fraca com êstes produtos e com o pus é difícil saber se a reacção

seria positiva, em casos em que êste não tivesse a mínima parcela de sangue.

A saliva, o suor e o muco dão reacção negativa.

Os metais coloidais, como o electragol, o lantol dão reacção nítidamente positiva.

O talco, a pedra pomes em pó, os sulfocianetos, o percloreto de ferro, o ferrocianeto de potássio, dão tambem uma reacção positiva, formando em alguns casos leves precipitados. Mas os sais de cobre, contrâriamente á reacção de Kastle-Meyer, não tem influência nenhuma sobre a benzidina. Lambert e Balthazard aproveitam êste facto, para, em suportes de cobre, pesquisarem manchas de sangue.

É, como as outras reacções còrantes, uma reacção de probabilidade, mas nunca de certeza.

É preciso pois, não firmar nenhum diagnóstico na sua positividade.

Reacção da aloína Esta reacção, talvez um pouco menos sensível que a de Van Deen, apresenta muitos inconvenientes. Alem de não sêr uma reacção específica, pois como a de Van Deen, perante

muitos e variados compostos, dá uma reacção positiva, muito semelhante á que dá com o sangue, é muito mais tardia no seu aparecimento e menos fácil de distinguir. Compreende-se que, sendo roseas algumas das soluções sangùíneas e sendo tambêm rosea, ou vermelha a reacção, não existe o contraste evidente da reacção de Van Deen, que dá uma coloração azul. Para se preparar o reagente, basta dissolver 4 gramas de aloína em 100 centímetros cúbicos de álcool a 95.º. O reagente tem uma côr ligeiramente amarelada, mais tenue que a do reagente de Van Deen.

Esta côr não modifica, nem pode diminuir a intensidade da reacção.

Pode tambêm fazer-se a solução de aloína em hidrato de cloral a 75 %, em água distilada. O veículo isto é o dissolvente, não modifica as qualidades da reacção, não aumenta a sua estabilidade, nem a torna mais sensível ou rápida. Este reagente altera-se duma maneira rápida ao contacto do ar, dando um líquido de côr avermelhada, o que é considerado por muitos como desvantajoso. O facto da sua alteração rápida não me parece ser o seu grande defeito, pois todos êstes

reagentes oxidantes, no meu modo de entender, devem ser preparados na ocasião das pesquisas.

Não devemos esquecer o que sucede com o reagente de Kastle-Meyer que, com a antiguidade, embora não perca as suas qualidades, ganha em compensação outras, tais como o apresentar reacção positiva com os alcalinos.

A qualidade da aloína também influi muito na côr do reagente. Diversas que ensaiei davam, em percentagens idênticas de dissolução, côres variadas ao reagente. Esta reacção é positiva e nítida nas soluções sangùíneas, quer com a essência de terebintina ozonizada quer com a água oxigenada. Diga-se de passagem que é mais rápida e mais intensa com a água oxigenada.

Para se ensaiarem os solutos suspeitos, basta, depois de prévia verificação da bôa qualidade dos reagentes, lançar sobre um centímetro cúbico do soluto, um centímetro cúbico do reagente e depois cinco a dez gôtas de água oxigenada. No caso de reacção positiva, aparece uma côr vermelho-pálida, que passa por diferentes fáses, até chegar ao vermelho vivo.

Esta reacção é bastante demorada no seu aparecimento.

Demora minutos, nunca excedendo quatro, e só ao fim de seis a dez, é que se nos apresenta no máximo de intensidade.

Num macerado duma peça mumificada e pertencente ao museu de anatomia patológica, embora o líquido filtrado não desse uma reacção positiva, avermelhavam-se contudo os fragmentos que tinham sido retídos na filtragem. Deu reacção fracamente positiva, já com sangue fervido, já com o mesmo aquecido a 120º.

Manchas bastante insoladas e de 6 mêses de idade, deram uma reacção positiva, mas fraca. Reacção intensa e nítida, obtive-a com manchas recentes e com sangue de 1 mês. Esta reacção tambem se verifica duma maneira nítida, directamente sobre as manchas, ou seus pequenos fragmentos. Os processos e modificações feitas na maneira de dissolver as manchas, para evitar ou antes diminuír as causas de erro, são os mesmos que são usados na reacção de Van Deen. Isto equivale a dizer que esta reacção não tem mais especificidade que a de Van Deen.

Reacção da parafenildiamina Esta reacção é bastante sensível, mas não é positiva com o sangue fervido, sangue em adiantada putrefacção, sangue sobreaquecido e é relativamente fraca com o sangue largamente insolado. Especificidade nula. Numerosos corpos químicos dão uma reacção positiva. É uma reacção oxidante, que não apresenta sequer as vantagens de muitas outras já descritas. O reagente, de fácil preparação, obtem-se dissolvendo em cem gramas de água distilada, cinco decigramas de parafenildiamina. Como peróxido, tanto dá resultado a essência de terebintina ozonizada, como a água oxigenada. Absolutamente de fácil alteração, deve sempre sêr preparado no acto do seu emprego.

A técnica da reacção é, como se vae vêr, bem fácil. Se a uma solução sangùínea, não fervida ou aquecida, juntarmos alguma gôtas do reagente e outras tantas de água oxigenada aparece-nos uma coloração esverdeada, que, passados momentos se torna azul violeta.

É interessante o aparecimento no soluto sangùíneo de estrias verdes correspondentes a água oxigenada, quando se lance esta com cui-

dado, gôta a gôta. Agitando-se a mistura, torna-se esta inteiramente verde com tendência a escurecer. *Boas* manda que se dissolva a mancha em éter, para que a reacção seja mais intensa. Nas minhas experiências, nenhuma diferença notei, pelo emprego dêste, ou daquêle dissolvente. No fim de cinco minutos,a côr azul da reacção transformava-se em castanho escuro.

Esta reacção foi fracamente positiva, com o macerado duma peça mumificada e datando de longos anos. Com soluto de manchas de 1, 6 e 8 mêses, foi muito fracamente positiva, especialmente com o último.

Não é, pois, uma reacção de aconselhar. Só tem desvantagens sobre todas as outras.

Reacção de Donogany A reacção de Donogany, pouco apreciável em soluções sangùíneas diluidas é, contudo, interessante em soluções concentradas, em sangue sêco em láminas de vidro.

Funda-se na côr vermelho-alaranjada, que o sangue toma em presença da piridina e do sulfidrato de amónio.

A côr usual amarela do sulfidrato de amónío, embora se use êste ultimo em pequena

quantidade, impede que esta reacção seja bem visível, em solutos sangùíneos diluidos. Nas manchas ainda sêcas e nos suportes, é que propriamente se torna bem visível. Pode ainda apreciar-se em sangue sêco em láminas e com observação microscópica. Pouco a pouco se vê a sua transformação em vermelho-alaranjado. Esta reacção é nítida com manchas antigas.

Não tem especificidade, nem tão pouco é usada como meio de diagnóstico da presença de sangue nas manchas.

Reacção do sulfato de hidrazina Esta reacção é fundada no poder que o sulfato de hidrazina, dissolvido numa solução de potassa cáustica, tem de transformar em hemocromogénio, a hemoglobina do sangue.

O hemocromogénio dá aos solutos uma coloração rosea. Esta reacção é difícil de observar em solução de manchas recentes, porque estas apresentam tambem já de per si uma coloração rosea. De mais a mais, a coloração rosea dada pela reacção, é muito fugaz, bastando agitar o tubo contendo a solução, para que desapareça imediátamente. O facto resulta

de que o hemocromogénio, ou hematina reduzida em soluto alcalino, muito instável, se oxida rápidamente. É pois esta reacção difícil de apreciar, mas serve para a pesquisa dos exames espectrais. Nas minhas experiências, verifiquei-a mais facilmente, fazendo-a em pequena escala, numa lamina cavada porta-objectos. Lançava uma gôta de solução sanguínea e tres ou quatro do reagente e cobria depois com uma lamela. Então, colocando a lamina no microscópio, com um pequeno aumento via bem o aparecimento da côr rosea. Substituindo depois a ocular, pela ocular espetroscópica, tive ocasião de observar o espectro do hemocromogénio.

O reagente, que é preparado horas antes, obtem-se dissolvendo cinco decigramas de sulfato de hidrazina em cem centímetros cúbicos de soluto de potassa cáustica a 10 % e juntando-lhe depois 10 gramas de álcool a 95.º.

Em resumo, a sua formula é:

Sulfato de hidrazina	— 0,5	gramas
Potassa cáustica	— 10	„
Água distilada	— 90	„
Álcool a 95º	— 10	„

Êste reagente é absolutamente incolor.

Deve-se preparar esta mistura cinco a seis horas antes e filtra-la no fim deste tempo.

Para provocarmos a reacção, devemos num tubo de ensaio fazer uma mistura de 1 centímetro cúbico da solução suspeita, para 10 de reagente. Havendo sangue, aparece primeiro uma leve côr amarelo-esverdeada, ligeira, e que se torna rosea. É preciso não agitar o tubo, pois então nem sequer a reacção se dá. Abandonada a si mesmo, a côr rosea desaparece rápidamente. Quando as manchas sejam antigas e insolúveis em água distilada, observa Dervieux que se lance um fragmento da mêsma, no próprio reagente. Êste se colorirá em róseo, se houver sangue na mancha. Esta reacção, não sendo fácil de obter, não tem carácter prático, mas serve para observar os espectros da hematina alcalina e da hematina reduzida, ou hemocromogénio.

Quando se examina o espectro do líquido, após a reacção e no momento do aparecimento da côr rósea, verificamos a existencia do espectro do hemocromogénio.

Agitando-se a mistura, desaparece a côr rósea e o espectro modifica-se, pela transfor-

mação do hemocromogénio em hematina alcalina. Deixamos em repouso e no fim de algum tempo aparece a côr rósea e com ela o espectro do hemocromogénio. Esta reacção, observada assim, deixa de sêr uma reacção de probabilidade, para passar a reacção de certeza, mas é pouca usada, porque os espectros do hemocromogénio e da hematina alcalina, embora não sejam difíceis de observação, requerem uma boa prática.

Reacção da alizarina Esta moderna reacção devida a Baecchi, pertence, como as passadas, ao grupo das reacções còrantes e como elas, tem pouca especificidade. Numerosíssimos são os corpos em que ela é positiva e não passa de uma reacção de fraca possibilidade. O Dr. Alvarez de Toledo dá-nos, numa interessante memória, os resultados de várias e bem ordenadas pesquisas que fez, com o fim de saber até que ponto ia a sua especificidade. Embora não tenha repetido todas as suas experiências, fiz as que julguei necessárias, para poder formar uma opinião segura acêrca do seu valor. È uma reacção atraente e que goza de bas-

tante sensibilidade. Foi sempre positiva, com todas as soluções sangùíneas, algumas de uma extraordinária diluição. Com diluições de sangue obtido por picada no dedo e no momento das reacções, verifiquei que se conservava nítida, mesmo com soluções sangùíneas tão diluidas, que eram absolutamente incolores. Dr. Alvarez dá-a como sensivel até $^1/_{6000}$ muito embora Baecchi, o seu inventor a tenha observado em diluições até $^1/_{20000}$. Nas minhas experiências, notei que a sua sensibilidade ia até $^1/_{8000}$, pois ainda, neste caso se observava a reacção, embora ligeira. Com um macerado duma peça mumificada, pertencente ao nosso museu, dava tambêm uma bela reacção.

Creio bem que a sensibilidade está em relação com a qualidade da alizarina, e mêsmo com a riqueza, em hemoglobina, do sangue empregado, pois com sangue de diferentes indivíduos e em diluições semelhantes, obtinha reacções de diferentes sensibilidades.

O reagente obtem-se dissolvendo azul de alizarina S, em água distilada, de modo a obter uma solução fraca, de côr amarelo-acastanhado.

As soluções fortes não dão com uma nitidez absoluta esta reacção e creio mêsmo que

o reagente ganha mais sensibilidade com fraca concentração, ou então, como fica menos còrado, deixa ver com mais facilidade todas as mudanças de côr. Altera-se rápidamente, não se conservando utilizável por mais de algumas horas. Deve-se fazer na ocasião do emprego. Como peróxido, emprega-se a água oxigenada.

Segundo o Dr. Alvarez de Toledo a água oxigenada a $^{3}/_{100}$ é suficiente. Eu nunca obtive a reacção com a água oxigenada nessa proporção, tendo que me servir de água oxigenada a 10 vol. Só com essa é que a reacção era nítida.

A técnica desta reacção reduz-se a depositar, com uma pipêta, a solução suspeita, á superficie duma mistura de dois ou tres centímetros cúbicos do reagente, e de um centímetro cúbico de água oxigenada. No ponto de separação dos liquidos, aparece rápidamente um anel de côr azul escuro, que se transforma em roxo ao fim de três a cinco minutos, se a solução suspeita contiver sangue.

A água oxigenada desenvolve tambem inumeras bolhinhas gasosas.

Com pequenas quantidades de soluto suspeito, aspira-se êste numa pipêta e a seguir o reagente com a água oxigenada. A reacção

é rápida, devendo aparecer no fim de 1 minuto, o máximo. Obtive-a com manchas de sangue recente e de 8 mêses, sem notar diferença de intensidade. O sangue fervido, aquecido a 120°, putrefacto, tratado pelos ácidos acético, clorídrico, azótico e sulfúrico diluidos, deu-me sempre reacção positiva tanto menos intensa, quanto mais concentrada estava a solução ácida.

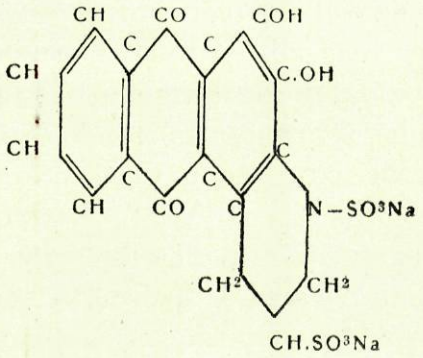
Pode obter-se em impressões de manchas dos papeis de filtro vulgares. Baecchi obteve-a positiva, com sangue aquecido a 170° durante meia hora, dissolvendo-o depois em álcool clorídrico.

Alvarez de Toledo confirma êste facto.

— O mecanismo desta reacção é semelhante ao das outras reacções còrantes do sangue.

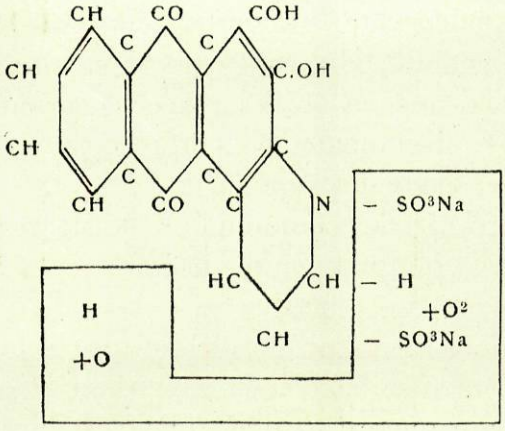
A água oxigenada, pela acção do sangue, cede o oxigénio, que vae oxidar o corpo còrante. Baecchi explica esta reacção do seguinte modo:

O azul de alizarina S, obtido do azul de alizarina, pela junção de duas moléculas de sulfito ácido de sódio, dá em presença do oxigénio, novamente azul de alizarina insolúvel.



Azul de alizarina S

Isto é, pela adição de oxígénio, liberta-se de novo o azul de alizarina insolúvel e regenera-se o sulfito de sódio.



Este azul insolúvel permanece pouco tempo na reacção, porque naturalmente a acção oxidante do oxigénio o transforma em derivados solúveis, explicando-se assim as mudanças de côr, que a reacção toma com o tempo.

Esta explicação, teórica sem duvida, satisfaz e segundo Alvarez de Toledo, é facil encontrar no líquido resultante da reacção, sulfato de sódio, o que vem em favor desta maneira de a explicar.

Alvarez de Toledo experimentou a reacção em 170 corpos diferentes, chegando á conclusão que só o ácido crómico e o bicromato de potassio dão uma reacção absolutamente parecida e analoga á do sangue.

Considera, pois, esta reacção sujeita a menos erros, que as outras reacções còrantes do sangue e preconiza o seu emprego já em clínica, já em medicina legal.

Entre os corpos que não dão esta reacção, figuram os seguintes, mais usuais:

Ácidos acético, clorídrico, azótico e sulfúrico

Ferrocianetos e ferricianetos

Sulfato de cobre, de magnesio
Macerados de batatas, cebolas, laranjas, pimentos, etc.
Urina, urina albuminosa, pus, muco nasal, esperma, fezes humanas.

Entre os que dão reacção positiva aparecem-nos:

Ácido crómico	reacção analoga á do sangue
Bicromato de potássio	
Sulfidrato de amónio	Reacções còradas, mas diferentes das do sangue
Cianeto de potássio	
Perborato de sódio	
Permanganato de sódio	
Arrenal	
Hidrato de Sódio	
Hidrato de Potásio	
Hidrato de Estrôncio	
Arseniato de sódio	
Cacodilato de sódio, etc.	

Embora numerosos corpos actuem sobre êste reagente, todos êles fazem, excepto o ácido crómico e o bícromato de potássio, diferenças, quer na côr, quer na duração e modificações,

que com o tempo toma a reacção, separando-se assim do sangue.

É pois ùtil, fazer um estudo aprofundado desta reacção, a fim de a livrar dêstes poucos erros, a que está sujeita. Hoje, tal como se nos apresenta, não constitúi senão uma reacção de probabilidade, sujeita contudo, a menos erros que as suas congeneres.

Reacção de Ganassini Muito embora não possa deixar de descrever esta reacção, proposta últimamente por Ganassini e revista por o professor Lecha-Marzo, em primeiro lugar confessarei que, apesar de seguir com toda a minùcía e cuidados a preparação do reagente, nunca me foi possível obtê-lo em condições de dar reacção com o sangue.

Fi-lo e repeti-o por bastas vezes, usando muitas eosinas, umas da casa Cogit, outras da casa Grubler, de inteira confiança, mas os meus trabalhos foram infrutíferos. O reagente, posto em contacto com o sangue, em soluções, quer concentradas, quer diluidas, não apresentava modificação de especie alguma. Pois tudo, até ao momento da reacção, concordava em

absoluto com as declarações feitas nas suas memórias já por Ganassini, já por Lecha-Marzo.

¿Má técnica, má qualidade dos reagentes? ¿A que atribuír os meu malôgros? Apesar de novos e rigorosos cuidados, do máximo escrúpulo na preparação do reagente, até hoje ainda não obtive resultado que me desse coragem para novas pesquisas (1). Mas êstes malôgros não são de molde a desanimar totalmente e em breve recomeçarei as minhas experiências sobre esta reacção. Julgo conveniente repetir aqui, em resumo, todos os trabalhos e discussões originadas por este reagente, descrevendo-lhe, quer a sua preparação, quer o seu modo de emprego.

O reagente prepara-se, segundo Ganassini, dissolvendo 20 centigramas de eosina pura e cristalizada, em 200 gramas de soluto a 20 %

(1) O distinto professor Lecha-Marzo, a quem me dirigi, interrogando-o sobre o máu resultado das minhas experiências, respondeu-me o seguinte, que transcrevo na integra. «El reactivo asi preparado en los ensayos qui hice anteriormente á la publicacion de mi nota, servia muy bien para la obtencion de la reaccion. Despues he vuelto á prepararlo y la nueva cantidad de reactivo no era utilizable... todavia no he averiguado la causa por la cual preparamos mal el reactivo en estos casos.

de potassa cáustica. Por intermédio de 55 centímetros cúbicos de ácido clorídico, obtem-se um precipitado flocoso, de côr amarelo-alaranjada.

Este precipitado, lavado em água distilada, é dissolvido em 25 centímetros cúbicos de álcool a 95°.

Assim se forma êste reagente, que tem côr amarelo-alaranjada com fluorescência verde.

Com todas as eosinas que experimentei, obtive sempre o mesmo precipitado, da mesma côr, com as doses acima indicadas. A lavagem, fi-la umas vezes no papel de filtro onde o retinha na sua filtragem, outras vezes procedendo de forma idêntica á que se procede para a lavagem dos glóbulos rubros.

O reagente tem uma reacção ligeiramente ácida. Alcalinízei-o por meio da potassa cáustica, ligeiramente. Quer em solução ácida, alcalina ou neutra, nunca me deu reacção com solutos sangùíneos. Mostremos, porêm, a reacção tal como a descrevem Ganassini e Lecha-Marzo.

"Quatro centímetros cúbicos da solução suspeita, tratados num tubo de ensaio por duas gôtas de reagente e duas de potassa

cáustica a 20 $_0/^0$, dão origem a uma coloração azul índigo, que se transforma em amarelo ouro, imediatamente, ao juntar-se-lhe uma gôta de água oxigenada a 5 $_0/^0$, se a solução que submetemos ao ensaio contem sangue.„ Segundo os mesmos autores, esta reacção pode sêr obtida em manchas sangùíneas sobre panos, madeira, cartões, etc. Uma gôta de reagente em conctato com a mancha dá a côr azul escura, com a junção de potassa a 20 $^0/_0$, passando a amarelo, pela adição de água oxigenada.

A putrefacção, a potassa, soda, amoníaco, cloreto de sódio, não modificam em nada o aspecto da reacção.

Os líquidos organicos que não contêm sangue, os sucos de plantas e flores, a maior parte das soluções metálicas, não dão com este reagente, reacção semelhante á do sangue.

Bellussi obteve reacções positivas com os saes de cobalto e de cobre em soluções diluidas, ou mesmo com solutos de manchas produzidas por estes sais. Ganassini diz que, contudo estes sais não dão uma reacção tão rapida como o sangue. A mudança da côr azul para amarelo ouro, é mais lenta com os solutos de sais de cobre.

Lecha-Marzo nota que a reacção é muito difícil de interpretar e que feita sobre um fundo branco, se torna muito mais nítida. Com o fim de a tornar mais visivel aconselha que se proceda da seguinte maneira: "Numa cápsula de porcelana, depositem-se 4 centímetros cùbicos da solução sangùínea, com duas gôtas de KOH a 20% e uma gôta de água oxigenada a 5%. Lançando-se em seguida uma gôta de reagente, de modo a caír um pouco de alto no meio da cápsula, vêem-se imediàtamente ondas concêntricas de côr azul, que passam rápidamente a amarelo-ouro. Repetindo o numero de gôtas, outras vezes se observa a reacção.

O ácido acético e o bicloreto de mercúrio impedem esta reacção. Os resultados do trabalho de Lecha-Marzo sobre este assunto, levaram-no ás seguintes conclusões:

Urina, muco, pús — reacção negativa
Solução de cloreto de cobalto — precipita pela acção da potassa e água oxigenada.

Soluções { sulfato de cobalto / nitrato de cobalto } formam precipitados

Lecha-Marzo dá alguma importancía a esta reacção. Na sua memoria podemos lêr o seguinte. "*Si no se puede admitir por su resultado positivo la certidumbre absoluta de la existencia de la sangre, és mucho más específica que las otras reacciones colorantes.*„

Relatei, pois, tudo quanto de importante se oferece na memoria apresentada pelo professor Lecha- Marzo. Infelizmente, nada posso de pessoal apresentar nesta reacção, da qual voltarei a ocupar-me brevemente.

*

Todas estas reacções tratadas nêste segundo capítulo,são, como se viu reacções de probabilidade e não consentem, quer isoladas, quer conjuntas, um diagnòstico seguro.

Mal do analista que fundando-se nelas, quisesse tirar conclusões seguras em qualquer caso médico-legal. Dia a dia, novos trabalhos veem surgindo, mostrando novos defeitos destas reacções.

¿Mas porque será que ainda hoje, grande parte dos analistas lançam mão delas nas suas pesquisas? Naturalmente porque são reacções

auxiliares e porque muitos autores as julgam úteis, para, pelo menos quando negativas, poderem excluir a presença de sangue. Observamos que mêsmo este valôr que lhes teem dado, é falso para a maior parte delas.

A reacção do Van Deen, não é positiva com sangue em determinadas circunstâncias, como em putrefacção adiantada, sangue aquecido etc.

O mesmo sucede com quási todas as outras. A reacção de Kastle-Meyer é impedida pela presença do sulfidrato de amónio. Como se depreende, nem sequer teem grande valor, quando negativas.

Outras reacções, que vão sêr descritas noutro capitulo, têm incontestávelmente toda a supremacia sobre as còrantes. São aquelas que classifico como certas e seguras, quando positivas.

Quando negativas, deixam de ter o mesmo valor, porque neste caso a sua negatividade pode ser devida a uma má técnica e má observação, ou a uma exigúidade de material, com o qual não se podem conseguir resultados garantidos. Seja como fôr, é nêsse grupo que o analista deve fazer as suas pesquisas, deixando as

reacções còrantes á parte, sem que isto queira dizer que se abandonem de todo. O seu estudo, o seu aperfeiçoamento, devem sêr tentados e quem sabe se, num futuro próximo, se encontrará uma reacção còrante do sangue, absolutamente específica. Hoje, no estado actual da sciencia médico-legal, não teem mais do que um valor històrico. Entre as reacções còrantes uma há, que algum valor tem: é a reacção do sulfato de hidrazína. Difícil de observar, presta-se, ainda assim, a ensaios espectrais concludentes. Notemos, porêm, que como reacção còrante, considerada só por êste lado, perde completamente todo o interesse. Bastante razão tem Otto Leers para afirmar que "um bom exame feito com uma lupa, por um indivíduo prático, é o melhor exame preliminar que pode haver.„

Não se deve, pois, desperdiçar tempo e material com as reacções còrantes, que segundo o meu modo de vêr só podem levar a graves erros.

CAPITULO III

Reacções de certeza

Resumo

I Reacções espectrais.
II Reacções cristalográficas.
III Processos histo-microscópicos.
IV Manchas confundíveis com as de sangue.

Reacções de certeza

Reacções espectrais A luz natural ou artificial, quando é obrigada a passar por soluções de algumas substâncias, apresenta modificações no seu espectro.

Aparecem faixas, linhas de absorção, específicas para cada soluto.

Êste facto, aproveitado em medicina legal para as pesquisas de sangue, constitúi, sem dúvida, o método mais simples e eficaz, para descobrir a presença de sangue em solutos suspeitos.

O defeito que muitos autores lhe atribúem, de necessitar grandes quantidades de sangue, é hoje bem remediável, já pela perfeição dos

aparelhos modernos, já mesmo porque, pondo-se em prática pequenos nadas, modificando os recipientes empregados para o exame das soluções, se consegue dar a solutos diluidos, uma espessura suficiente para obter um espectro nítido.

Alêm disso, a ocular espectromicroscópica pode examinar parcelas mínimas de manchas suspeitas, ou gôtas de solução das mêsmas.

È verdade que soluções sangùíneas averiguadas, muitas vezes não dão espectros concludentes. Leers, com manchas insoladas durante 16 dias consecutivos, não conseguiu, com as suas soluções em cianeto de potássio, obter o espectro de ciano-hematina. Êstes casos, porêm, são raros e com outros dissolventes, tais como o ácido sulfúrico, em último caso, consegue-se obter um espectro específico.

O que é facto, é que seguramente êste é o método mais simples, mais fácil e seguro, de que podem lançar mão os analistas.

As soluções devem sêr feitas, de preferência em água dístilada fria. A solução óptima, segundo Dervieux, é a que se aproxima da solução de sangue a $^1/_{100}$. A concentração da solução sangùínea deve sêr francamente còrada

(côr de flôr de pecegueiro.) Tem sêr de fórma a dar um espectro bem visível, mas tambem a sua concentração não deve ultrapassar certos limites, o que só faria escurecer o espectro, a tal ponto, que seria impossível a sua observação.

As soluções, porêm, podem ser examinadas em diferentes espessuras, o que faz com que uma solução dada, possa produzir diferentes tonalidades de côr, fazendo-se variar a sua espessura. O uso de um *écran* amarelo dá, segundo ainda verificação pessoal, um certo relevo ás faixas de absorção, tornando-as mais visíveis. Observei êste facto pela primeira vez, quando tentei reduzir o espectro da oxi-hemoglobina com o sulfureto de amónio. Êste ultimo côrpo, de côr amarela e tingindo de amarelo as soluções sangùíneas, dava, enquanto era insuficiente para reduzir a oxí-hemoglobina, um espectro mais visível, fazendo sobresair as faixas de absorção da oxi-hemoglobina. Mais tarde verifiquei, fazendo uso dum *écran* amarelo, quão útil se tornava o seu emprego nêstes exames, muito principalmente na observação do espectro da oxi-hemoglobina.

As soluções examinadas devem ser absolutamente límpidas. Muitos auctores mandam

filtrá-las por papel *Joseph*, outros decantam-nas e recolhem com todo o cuidado, o liquido límpido numa pipêta.

Os recipientes empregados para o exame devem ser de vidro de bôa qualidade, sem defeitos e devem estar rigorosamente limpos. Diversos são os tipos de reservatórios empregados.

Usando-se tubos de ensaio, torna-se pouco cómoda a observação.

É preferível usar sempre vidros de faces paralelas. Estas cuvas tem usualmente uma espessura constante de 5 mm, o que requer uma solução sangùínea de côr um pouco forte.

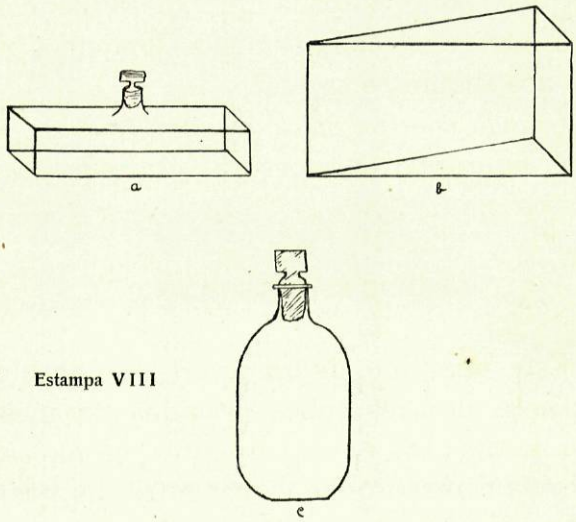
O professor Alberto de Aguiar usa no seu serviço laboratorial uns recipientes extraordinàriamente cómodos, que lhe permitem observar as soluções em diferentes espessuras, gastando uma pequena quantidade de soluto. Uns, (Estampa VIII, fig. *a*) são constituidos por paralepípedos alongados, de vidro de bôa qualidade, tendo numa das faces um pequeno bocal, com rolha de vidro. De 1 centímetro de espessura, teem respectivamente 2,5, 5 e 10 cm. de comprimento. Levam, para o seu enchimento completo, pequenas porções de solução e, como

acima referi, quando examinados no seu comprimento máximo teem a grande utilidade de, em pequeno volume de solução, darem uma grande espessura. Na mesma Estampa (fig. *b*), se vêem outros recipientes, um de forma triangular, tendo 1,5 cm. de espessura máxima, por 10 cm. de comprimento e 4,3 cm. de altura, que permite a observação dos solutos em diferentes espessuras. Finalmente, vê-se o representado na fig. *c*, da mesma Estampa e que é de espessura constante, de faces paralelas, medindo $2^{cm},5$ por $2^{mm},5$. Com êstes recipientes, podem examinar-se soluções extraordinàriamente diluidas e em pequena quantidade. O distinto professor Alberto de Aguiar serve-se nas suas pesquisas, dêstes recipientes, com exclusão de quási todos os outros. E na verdade, as manchas que, em geral, são levadas aos laboratórios para se proceder ao seu exame, são quási sempre suficientes. Como diz Dervieux, manchas pequeníssimas, que se encontrem, quer nos vestuários, quer em outros objectos, não são úteis para, por si só formarem uma causa, um argumento importante, num crime.

Segundo o seu conselho devem sêr desprezadas.

Em ultimo caso, porêm, lançaremos mão do espectromicroscópio, para essas manchas de dimensões mínimas.

A sensibilidade das reacções espectrais vai longe. Hoppe-Seylee afirma que a hemo-



Estampa VIII

globina oxigenada dá em soluto a $^1/_{10000}$ um espectro fácilmente analisável.

Benoit e muitos outros dão como limite máximo, para um indivíduo normal e exercitado, a solução a $^1/_{5000}$. A afirmação de Hoppe-Seyler é exagerada.

Soluções mais concentradas, a $^1/_{8000}$, $^1/_{6000}$, não dão um espectro sequer razoavel.

Na prática corrente são usados diversos modêlos de espectroscópios. Todos êles se fundam no mesmo princípio e diferem pela sua construção, que os torna aptos para uns certos fins e mais ou menos cómodos. Podemos referi-los aos seguintes tipos:

Grande espectroscópio; espectroscópios de visão directa, figurando entre estes o de *volume variável; microespetroscópio.*

GRANDE ESPECTROSCÓPIO

Este aparelho, de uma perfeição absoluta, compõe-se de três tubos situados no mesmo plano horizontal e convergentes numa caixa cilíndrica central, onde se encontra um grande prisma. Na Estampa IX, fig. 1, encontra-se desenhado um esquêma, onde se pode seguir a discrição deste espectroscópio.

O tubo C, munido duma ocular, é destinado a receber a imagem real do espectro, proveniente dos raios luminosos, que atravessaram o prisma P. Estes raios luminosos foram recebidos pelo tubo A, tubo que tem

na sua extremidade distal uma placa (fig. 2) munida de uma fenda regulável pela acção do parafuso J. A fenda vertical encontra-se no foco principal duma lente convergente situada no interior do tubo A. Posta em frente da fenda uma fonte de luz, entra por ela um feixe de raios luminosos divergentes, que se tornam paralelos ao atravessar a lente convergente, e assim são obrigados a passar através do prisma P. O tubo F é portador de uma escala graduada e fotografada sobre vidro. É pois um micrómetro, que sendo iluminado, projecta os seus raios, tornados paralelos pela acção de uma lente convergente, sobre o prisma P, sofrendo uma reflexão total, que os envia ao tubo C, onde se sobrepõem aos provenientes do tubo B. Isto é, a imagem do espectro e a do micrómetro são examinadas na luneta C ao mesmo tempo. Os tubos C e F, são móveis, permitindo a mobilidade de F colocar a imagem da escala em qualquer ponto do espectro. A mobilidade de C traz consigo a grande vantagem de se poder examinar um ou outro extrêmo do espectro, em separado e em maior extensão.

O parafuso sem fim E incumbe-se dos movimentos da luneta C. O parafuso G, servido

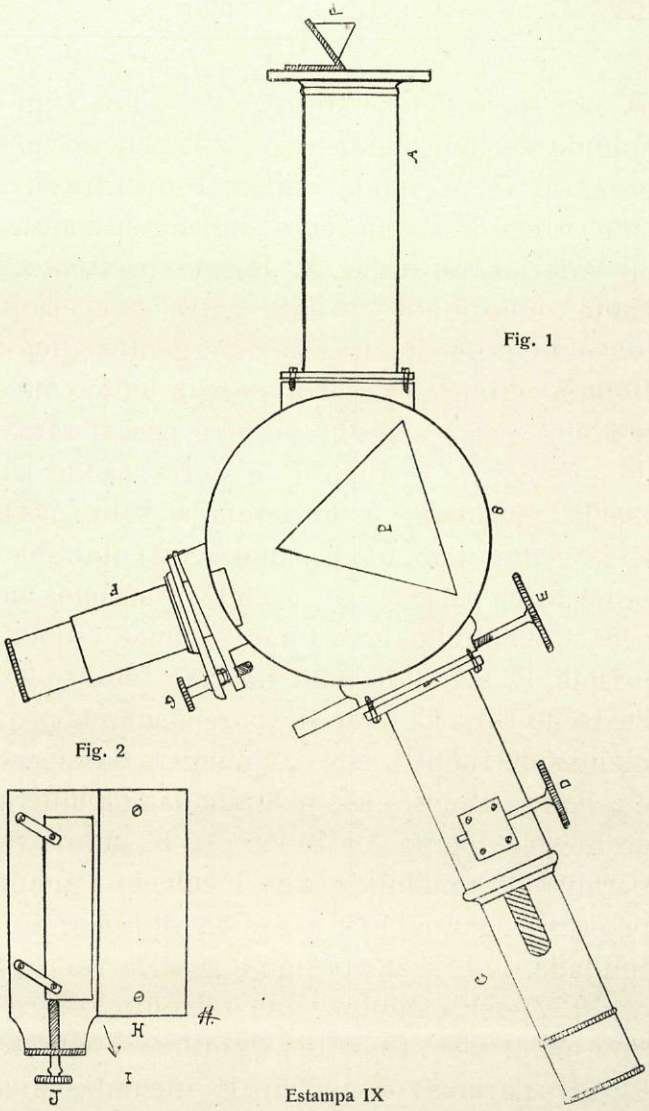


Fig. 1

Fig. 2

Estampa IX

GRANDE ESPETROSCÓPIO. FIGURAS ESQUEMATICAS

(usado no laboratório do prof. Alberto de Agular).

por uma mola helicoidal, regula os movimentos do micrómetro.

O Tubo A é imóvel, de comprimento fixo, e tem a sua fenda dividida em duas partes. A superior é vedada por um prisma de reflexão total. A inferior é livre. Esta disposição permite obter ao mesmo tempo espectros de duas fontes luminosas distintas. Compreende-se a vantagem que se pode tirar dêste aperfeiçoamento. Um dos espectros pode sêr tomado como espectro de referência, para facilitar assim comparações que se tenham que fazer.

A "*mise au point*„ dêste espectroscópio não é inteiramente fácil. Requer paciência e hábito do aparelho. Deve-se fazer antes de tentar qualquer exame.

Primeiro que tudo, regula-se a posição das duas fontes luminosas, de maneira a colocá-las no eixo dos tubos. A luz usada é a artificial, obtida por mangas de incandescência, que teem a enorme vantagem de dar uma intensidade fixa e permanente.

Conseguida a imagem do espectro, deve focar-se êste com o auxilio do parafuso D e por intermédio do botão E, escolhe-se a zona do espectro que convem examinar. Vem depois a foca-

gem do micrómetro. A fonte de luz usada para a sua iluminação costuma ser dada por um bico (borboleta) de gás. É preciso não o aproximar muito do micrómetro, pois corre-se o risco de deteriorar, pela acção do calor, a escala micrométrica, que é feita em placa de vidro gelatinado. A escala pode ocupar qualquer lugar do espectro, porque é móvel com o parafuso G. Deve ser fracamente iluminada, a fim de sobresair com nitidez no espectro. A marcação 60 da escala deve ser colocada na raia do sódio, que nós podemos provocar, queimando álcool com cloreto de sódio em solução. A risca do sódio obtem-se de muitos modos.

Queimando um bocado de papel, queimando um cristal de cloreto de sódio num fio de platina etc.

Esta risca aparece quasi sempre, seja qual fôr a natureza da fonte luminosa, o que é devido á presença de saes de sódio no ar.

Compreende-se que a escala micrométrica pode ocupar diferentes posições no espectro e daí o costume de os analistas alemães colocarem o 100.º da escala na risca do sódio e de outros, como os franceses, a colocarem no 60 e 80 da escala.

A referência é dependente da vontade do observador, mas êste tem sempre que indicar qual o numero de que se serve, para marcar a risca do sódio. Só desta maneira se podem comparar os resultados.

O aparelho, depois de bem regulado, está então em condições de servir, para o exame espectral.

Os tubos, ou recipientes com as soluções suspeitas, são colocados de maneira a interceptarem os raios luminosos, antes da sua entrada no tubo A. Uns colocam-nos em tripés apropriados, outros colocam-nos directamente com a mão, encostando-os á fenda. A solução tipo é colocada de maneira que atravesse os raios que se dirigem para o prisma de reflexão total existente na placa do tubo A e dá-nos o espectro que ocupa na luneta C o logar inferior.

ESPECTROSCÓPIOS DE VISÃO DIRECTA

Êstes espectróscópios são, na essência, idênticos ao que acabei de descrever. Mais portáteis, mais baratos, servem contudo, para os exames médico-legais vulgares. São constituidos por um tubo, que se aplica deante dos

olhos visando qualquer fonte de luz artificial, ou visando mesmo o céu. Na extremidade distal, fica colocado o recipiente contendo a solução suspeita. Alguns dêstes espectroscópios tem um tubo micrométrico acessório. São verdadeiros espectroscópios de mão.

Ha contudo um espectroscópio vertical, muito cómodo e que merece uma descrição especial. Refiro-me ao espectroscópio de volume variável (Estampa X).

Tem um formato semelhante aos dos microscópios. A luz natural, depois de reflectida num espelho, é obrigada a atravessar verticalmente, de baixo para cima, um sistema prismático. A solução suspeita é deposta num cilindro de vidro. Dentro deste cilindro, mergulha todo o sistema do espectroscópio, defendido por um novo cilindro de fino vidro. Desta maneira, as soluções nunca tocam no sistema de lentes convergentes, que guarnecem a extremidade inferior do tubo central.

Êste tubo é móvel verticalmente, podendo, pois, estar mais ou menos mergulhado no cilindro de vidro, onde está a solução suspeita, variando-se dêste modo a espessura do liquido a examinar.

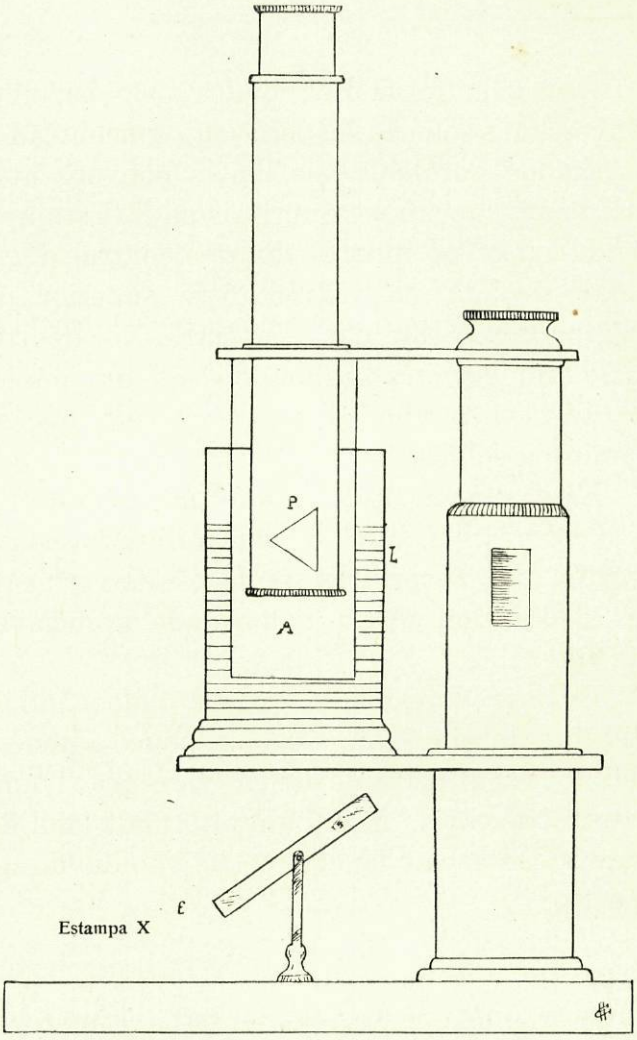
Os raios luminosos dados pelo espelho, atravessam a solução suspeita, são concentrados e tornados paralelos nas lentes convergentes e ao depois lançam-se num prisma P (Estampa X) que existe no interior do tubo central. Uma ocular situada na extremidade superior do tubo, permite examinar o espectro. No suporte, existe um sistema graduado, com um nónio, que permite avaliar a espessura, em que se examina a solução.

Este microscópio, usado no laboratorio do Professor Aguiar é extraordinàriamente cómodo. (1) Os espectros são fáceis de verificar, mas necessitam duma quantidade apreciável de soluto.

Deve-se começar o exame, colocando a a escala lateral no zero e depois, pouco a pouco, subir o tubo central até à percepção dum espectro razoável. Assim é muito mais fácil de notar todas as mudanças que se vão dando no espectro.

---

(1) O professor A. Aguiar tem em uso no seu laboratório uma preciosa coleção de espectroscópios. Á sua amabilidade devo eu os esquêmas que acompanham este assunto, e que retirei ao examinar os seus aparelhos.



Estampa X

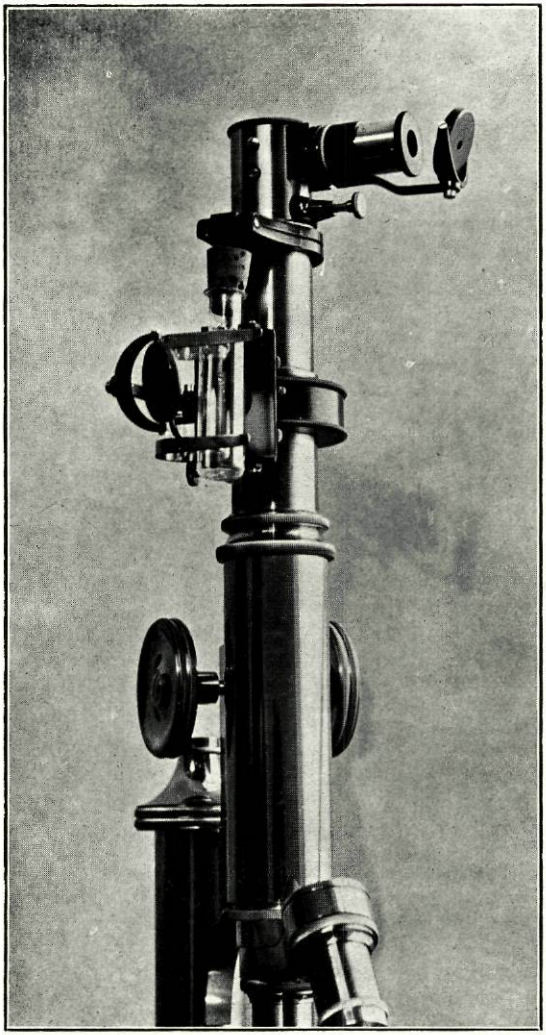
ESPETROSCÓPIO VERTICAL DE VOLUME VARIÁVEL

(usado no laboratório do prof. Alberto de Aguiar).

ESPECTROMICROSCÓPIO

Êste espectroscópio é um espectroscópio de visão directa, em que o tubo distal é feito de maneira a poder-se adaptar a qualquer microscópio, como se fôra uma simples ócular. É um aparelho perfeitíssimo e delicado. Fornecido de uma luneta micrométrica de escala móvel, iluminada por um espelho lateral, tem uma fenda a meio do seu tubo principal, munida de de um espelho de reflexão total, que envia os seus raios luminosos ao prisma de refracção, podendo desta maneira dar um espectro de referência.

Em frente desta fenda, existem umas molas-garras, onde se colocam pequenos frascos cilíndricos, com as soluções tipos. O espectro assim obtido ocupa a metade superior da imagem observada na ocular. Um parafuso lateral permite retirar êste espectro acessório, quando isso se torne necessário. O espectro que é produzido pelos raios luminosos que atravessam o microscópio, pode sêr tambem reduzido no comprimento e espessura por um sistema de parafusos, que existem no corpo principal do espectroscópio. A Estampa XI mostra-nos êste



EST. XI

Ocular espectroscópica da casa "Leiz", montada num microscópio vulgar

(Símili-gravura Marques Abreu)

aparelho montado num microscópio vulgar, pronto a ser utilizado.

Afinal, em pequena escala, reune todas as perfeições do grande espectroscópio. Mais adiante, voltarei a tratar do seu emprego, depois de estudar os diferentes espectros da hemoglobina e seus derivados

ESPECTROS DA HEMOGLOBINA E SEUS DERIVADOS

Na hemoglobina, ou em qualquer dos seus derivados, embora os seus espectros sejam específicos, a intensidade e largura das faixas de absorção variam com a concentração do soluto sangùíneo.

Muitas vezes, com os solutos concentrados as faixas são escuras e largas, confundindo-se numa só, quando próximas. O espectro escurece extraordinàriamente, não se distinguindo senão o vermelho, o alaranjado e o amarelo. Se a concentração diminúi, as faixas perdem a sua intensidade, separam-se e o espectro aparece com toda a nitidez. Os bordos das faixas não são em geral muito nítidos. Só a sua parte central é que se deve referir á

escala micrométrica, a fim de evitar erros. A escala micrométrica pode estar, como já disse, de maneira a marcar a risca D do sódio com o 60, 80 ou 100 da sua graduação. Nas nossas descrições, contaremos sempre com a divisão 80 na risca D do sódio.

ESPECTRO DA OXI-HEMOGLOBINA

O sangue fresco, diluido em água distilada, contem sempre hemoglobina oxigenada.

O espectro da oxi-hemoglobina caracteriza-se por duas faixas de absorção situadas entre as riscas D e E do espectro. Referindo-nos á escala micrométrica, estas faixas ocupam, uma, de 81 a 87, outra, de 97 a 106. A primeira ocupa o alaranjado e parte do amarelo, a segunda o limite do amarelo e verde do espectro.

ESPECTRO DA HEMOGLOBINA REDUZIDA

O espectro da hemoglobina reduzida é caracterizado pela presença da chamada faixa de Stokes. Tem, pois, uma única faixa, muito larga, de bordos pouco nítidos e ocupando o espaço intermediário das duas faixas da oxi-he-

moglobina. Muito mais pálida, muitas vezes não se consegue vêr em soluções em que as faixas da oxi-hemoglobina eram pouco sensíveis.

Como agente redutor do sangue, emprega-se mais vulgarmente o sulfidrato de amónio. Este redutor é enérgico e rápido.

Stokes empregava como redutor uma solução neutralizada pelo amoníaco, de 5 % de protocloreto de estanho, adicionada de ácido tartárico.

O hidrosulfito de sódio, redutor rápido, pode também ser usado.

A solução de Stokes altera-se e turva o soluto sangùíneo, embaraçando a reacção. Todos êstes redutores deixam ao fim de algum tempo, depois de misturados com o sangue, de ter uma acção eficaz sobre a hemoglobina que ao contacto do ar, se oxigena de novo.

Estas mudanças de espectros pela acção dos redutores, permitem separar o espectro da oxi-hemoglobina fácilmente transformável, do espectro do picrocarmin, que não se modifica pela acção dos redutores.

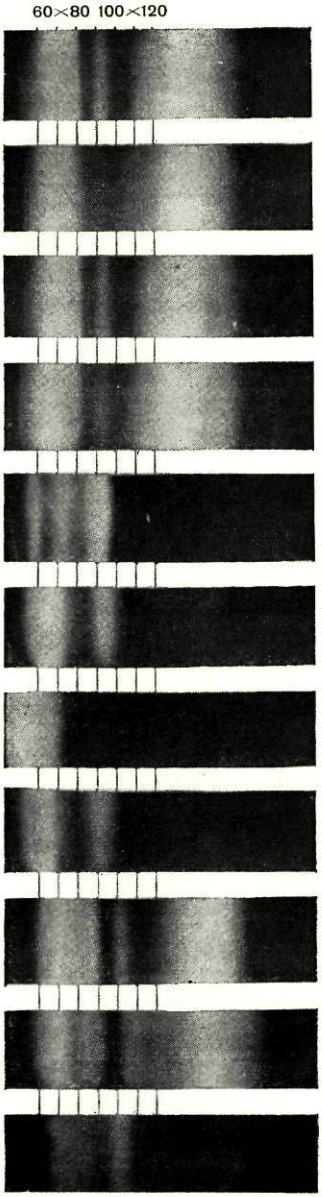
ESPECTRO DA HEMOGLOBINA OXI-CARBONADA

Êste espectro apresenta duas faixas de absorção muito semelhantes á da oxi-hemoglobina, mas um quási nada desviadas á direita. Práticamente, é impossível notar a diferença dos dois espectros. Só os redutores por exemplo o sulfidrato de amónio, não modifica o espectro da hemoglobina oxi-carbonada, o que se não dá com o da oxi-hemoglobina. A quantidade de óxido de carbono existente no sangue modifica um pouco o espectro, conforme está á saturação, ou não.

No sangue saturado, o espaço entre as duas faixas, é muito mais nítido do que no caso contrário.

Quando a oxicarbonação não foi completa, caso pouco vulgar, como muito bem o afirma Dervieux, no sangue existe alem da hemoglobina oxi-carbonada a hemoglobina oxigenada.

De espectros quási iguais, êstes sobrepõem-se, mas o da oxi-hemoglobina vem pouco mais á esquerda, obscurecendo o intervalo das duas faixas. Quando se junta o redutor, então a hemoglobina reduz-se e dá a faixa ùnica que se



Oxi-hemoglobina

Hemoglobina reduzida
(faixa de Stokes)

Hemoglobina oxi-carbonada
á saturação

Hemoglobina oxi-carbonada
parcialmente

Met-hemoglobina
(solução ácida)

Met-hemoglobina
(solução alcalina)

Hematina
(solução ácida)

Hematina
(solução alcalina)

Hemocromogénio
(Hematina reduzida em solução alcalina)

Hemato-porfirina
(solução ácida)

Hemato-porfirina
(solução alcalina)

EST. XII

Espectros da hemoglobina e seus principais derivados.

(Símili-gravura Marques Abreu)

vem interpôr ás duas faixas da hemoglobina oxí-carbonada. Compreende-se que, quanto menor fôr a quantidade de oxi-hemoglobina existente no sangue, tanto menos visível será o espectro da sua redução, tornando-se por êste facto mais claro o espaço situado entre as duas faixas da hemoglobina oxi-carbonada.

Quando a quantidade de hemoglobina oxí-carbonada fôr pequena, as suas duas faixas confundem-se em intensidade com as de Stokes, tornando difícil a sua observação. Nêste caso, sò a medida total da faixa poderá prestar auxílio.

Sabendo-se que a faixa de Stokes vai na escala, de 87 a 97, se esta se prolongar de 81 a 106, é porque o sangue contêm óxido de carbono, embora em pequena quantidade.

ESPECTRO DA MET-HEMOGLOBINA

A hemoglobina transforma-se, com a putrefacção do sangue, num derivado, que apresenta um espectro próprio. Trata-se da chamada met-hemoglobina, que apresenta espectros diversos, se está em solução alcalina, ou ácida.

Uma faixa no vermelho, 68 da escala, com desaparecimento do espectro a partir do 100, quando em *solução ácida.*

Quando em *solução alcalina,* aparece uma faixa pouco intensa, junto á risca do sódio em 80.

É preciso notar que raras vezes, na putrefacção, a hemoglobina se transforma totalmente em met-hemoglobina. Ficam sempre restos de hemoglobina oxigenada, cujo espectro nos aparece também ao mesmo tempo.

ESPECTRO DA HEMATINA

A hematina que existe na putrefacção adiantada do sangue, dá também dois espectros.

Em *solução ácida,* dá uma forte faixa no 58 da escala, obscurecendo o espectro a partir do 60.

Em *solução alcalina* dá uma faixa larga no 58 de escala, mas o espectro só desaparece a partir do 105.

ESPECTRO DO HEMOCROMOGÉNIO

A hematina reduzida em solução alcalina, ou hemocromogénio, apresenta-nos duas importantes faixas de absorção.

Uma, muito intensa, mas estreita no 98, outra, larga, mal defenída no 112. Esta segunda faixa aumenta com a concentração do soluto sangùíneo. Não existe nas soluções fracas. É de todos os espectros o mais nítido e de fácil observação.

A hemoglobina oxi-carbonada dá um espetro semelhante, mas usando a escala micrométrica, vê-se bem que se torna fácil a sua distinção. É preciso, pois, estar prevenido, para evitar erros deploráveis.

ESPECTRO DA HEMATOPORFIRINA

O conhecimento perfeito do espectro dêste derivado é de grande vantagem para o analista, porque com manchas muito antigas e insolúveis nos meíos vulgares, lança-se mão do ácido sulfúrico, a fim de obter um soluto contendo um derivado da hemoglobina — a hematoporfirina.

Manchas existentes em tecidos queimados, muitas vezes com o intuito de ocultarem um crime, tambem só dão, no exame espectral, a hematoporfirina. Dêstes factos, se conclúi a necessidade de conhecer bem o espectro da hematoporfirina.

A hematoporfirina pode obter-se em solução ácida, ou alcalina.

Quando fazemos actuar sobre o sangue o ácido sulfúrico, a hematoporfirina formada imediátamente, fica em solução ácida.

Pela adição de água distilada, precipita em flocos brancos.

Lavados sobre filtros, dissolvem-se em potassa cáustica a 10 ou 20 %, obtendo-se desta maneira a sua solução alcalina.

O espectro da hematoporfirina, em soluto ácido, apresenta-nos três faixas de absorção, correspondentes aos numeros 80, 100 e 118 da escala micrométrica. As faixas 80 e 118 são pálidas. A 100 é a mais intensa.

A hematoporfirina em soluto alcalino dá tambem tres faixas no seu espectro. A primeira, no 92, com bordos pouco nítidos, a segunda estreita e pálida, no 108 e outra, a última, escura e larga, no 135. A partir do 170, o espectro escurece por completo.

— Esta reacção espectral é, sem dúvida, complicada, mas, em compensação, é mais sensível, não por si, mas por se poder conseguir com manchas muito velhas.

Deve-se tentar sempre, isto é, todas as

vezes que as outras forem negativas, por se usarem soluções fracas provenientes de manchas pouco solúveis. É o ultimo recurso das reacções espectrais.

ESPECTROMICROSCOPIA

O espectromicroscópio serve para se trabalhar com quantidades mínimas de sangue e é duma aplicação e uso mais fácil que o grande espectroscópio. É preciso notar, que sendo o seu espectro de um comprimento reduzido, a sua observação torna-se delicada, e necessita de uma bôa prática.

Por essa razão, havendo como há, um espectro muito visível, nítido e específico — o do hemocrómogénio — é êste que se procura observar com o espectromicroscòpio.

Tudo está, pois, em transformar toda a hemoglobina, em hematina reduzida em solução alcalina, ou hemocromogénio.

Nas manchas antigas, a transformação da hemoglobina em hematina é constante; nas recentes, pelo contrário, existe a hemoglobina ainda intacta.

Se as tratarmos, porêm, pela potassa, obte-

remos uma solução alcalina de hematina, que nós, com o auxílio do sulfidrato de amónio, podemos transformar em hemocromogénio.

Fundamentalmente se resume nisto o emprego do espectromicroscópio. É contudo, necessário expôr com mais amplidão a maneira de operar, porque varia com a natureza das manchas.

Se a mancha está sobre um pano, teremos que fazer o exame directamente. Nos tecidos brancos e transparentes sem operação prévia, nos tecidos escuros e densos, após uma dissociação feita com agulhas de platina, numa solução de potassa.

O uso de agulhas de platina desvia os erros, que são frequentes, derivados de se juntar ferrugem á preparação.

Se a mancha está em madeira, aço etc., ou é bastante espessa, descasca-se e leva-se um fragmento duma crosta ao microscópio, dissolvendo-o préviamente num soluto de potassa e juntando a seguir uma gôta de sulfidrato de amónio.

Repetindo: a mancha, dissociada ou não, é colocada numa lámina e dissolvida em potassa. Depois de coberta por uma lamela, com

uma pipêta, faz-se entrar por capilaridade uma gôta de sulfidrato de amónio. Examina-se primeiro com um pequeno diámetro (ocular 1 e objectiva 3) e escolhe-se o melhor ponto da preparação, que deve sêr bem iluminada. Se a mancha é muito pequena, substitúi-se a objectiva n.º 3 por a n.º 6. Foca-se bem e escolhe-se um espaço entre as malhas do tecido, quando êste é muito denso. Depois com cuidado substitúi-se a ocular por o espectromicroscópio.

Se se trata de sangue, imediátamente se vê o espectro do hemocromogénio. Hoje, a casa Leitz fabrica os espectromicroscópios com escala graduada, o que torna muito mais fácil as referências das faixas de absorção.

Embora êste aparelho, pela pequenez do espectro não se preste a trabalhos dum rigor absoluto, serve muito bem no uso da prática corrente. Lembremo-nos que o espectro do hemocromogénio é inconfundível, bem nítido, específico e só aparece depois da adição do sulfidrato de amónio.

Um acidente faz desaparecer êste espectro: é a presença de sais de ferro, que pela acção do sulfidrato de amónio dão produtos verdes escuros, que impossibilitam todas as pesquisas.

As manchas de sangue podem ser examinadas, depois de impressas em papel de filtro, ou então em películas fotográficas, pelo processo de Lecha-Marzo.

Por meio dêste método, analisaremos quer manchas, cujo suporte seja o ferro, madeira, cartão etc,, quer manchas feitas em panos.

A ferrugem, sendo insolúvel, não virá ligada ás impressões obtidas nos papeis e películas fotográficas.

Como se sabe, a ferrugem, tratada pelo ácido clorídrico, dissolve-se, dando um corpo amarelo, o percloreto de ferro, que em presença do ferrocianeto de potássio dá um precipitado azul.

Deve-se fazer esta reacção, quando haja dificuldades em distinguir manchas de ferrugem.

Em resumo, diremos que o espectromicroscópio é um aparelho útil, pela sua sensibilidade e por sêr dum uso relativamente simples.

Nas minhas experiências obtive belos espectros de oxi-hemoglobina, hemoglobina reduzida, oxi-carbonada e hemocromogénio. (Usando um *écran* amarelo, consegue-se vivificar as faixas de absorção da oxi-hemoglobina).

Estou absolutamente certo, que o seu uso muito brevemente entrará na pratica corrente, constituindo um elemento de primeira ordem no diagnóstico médico-legal das manchas de sangue.

Reacções cristalográficas

CRISTAIS DE HEMINA

Em 1853, prestou Teichmam com a sua descoberta, um incalculável benefício á medicina legal. A descoberta dos cristais de cloridrato de hematina, mais vulgarmente conhecidos por cristais de hemina, constitúi um dos métodos mais seguros para o diagnóstico da presença de sangue.

Pena é que os processos usados até hoje não sejam fáceis de executar.

Há sempre uns "quês„ uns modos ocultos de fazer as reacções cristalográficas e que só a prática pode fazer conhecer. ¿Quantas vezes se repete a reacção para conseguir em certos casos, os cristais de hemína?

A variedade sem numero de processos, descritos por êste e por aquêle autor prova bem a falta de um método seguro e fácil, que

todos sigam sem distinção. Mas embora com trabalho, o analista consegue sempre, ao cabo de algum tempo de pertinácia, encontrar um processo que lhe agrade e com o qual chegue a obter os cristais com segurança. Pequenas variações na técnica, pequenos nadas, no entanto difíceis de descrever, variando com cada analista, tornam esta reacção um pouco difícil.

Estou certo que a temperatura muitas vezes exagerada, a dificuldade da sua escolha, são a causa dos malôgros na preparação dêstes cristais.

São sempre reacções delicadas, reacções microscópicas, muito sensiveis e por essa razão também susceptíveis e impedidas pelo menor desvio de técnica. Hoje obteem-se outros sais de hematina, seguros também para o diagnòstico e que não necessitam cuidados tão extremos. Refiro-me aos cristais de iodidrato de hematina.

Êstes ultimos obteem-se com grande facilidade e não errarei, afirmando que se produzem com soluções sangùíneas mais diluidas, sendo por êsse motivo muito mais sensível a sua reacção. Entre os derivados da hematina,

figura o hemocromogénio, que tambem é susceptível de cristalização rápida e constitúi hoje um dos processos de diagnóstico das manchas de sangue. Em breve me refirirei a todos, mas embora eu julgue que êstes novos processos virão num futuro próximo, substituir a reacção de Teichmann, considero ainda esta ultima como segura, sujeita a poucos erros e muito bem estudada, o que não acontece com as outras. Merece, como se vê, uma menção especial.

Ainda hoje é, em segurança, a primeira das reacções cristalográficas.

*

Os cristais de hemina não são absolutamente constantes, nem na forma nem nas dimensões, nem na côr que apresentam. Podemos referi-los a tipos vulgares. Dão-nos o aspecto de prismas romboidais alongados na maior parte das reacções, o que não impede que se encontrem cristais de hemina com formas de losango e hexagonos. Em geral, só os romboidais alongados é que se reunem em formas estreladas, em cruz etc. Estou em crer

que a temperatura pela qual se obtem a reacção, influi poderosamente na forma dos cristais. Nas experiencias a que procedi nêste sentido, usando o processo de Lecha-Marzo que adiante descreverei, obtive sempre cristais com forma predominante de losango.

Ora, nêste processo, a temperatura a que se faz a reacção é relativamente alta. Quando seguia metodos lentos, com fraca temperatura, raras vezes se produziam cristais desta forma. Nêsses casos, o predomínio absoluto pertencia aos cristais alongados e romboidais.

Como dimensões normais, difícil será estabelecer numeros certos. Dentro da mesma preparação, encontram-se cristais com comprimentos que variam de 1 a 20 micras, tendo uma largura tambêm com variações correspondentes.

A sua côr é vermelho-escuro, mas encontram-se cristais com tonalidades muito diferentes. Alguns quási incolores, outros amarelos, outros acastanhados e outros vermelho-carregados. Tudo está em relação com a espessura dos cristais. Êstes são fáceis de conservar e aumentam de volume se se manteem em meio húmido.

A potassa destroi e impede a sua formação. São insolúveis no éter, no álcool, água e glicerina.

O processo, que muitas vezes se segue para dissolver manchas antigas com solutos de potassa, não serve para esta prova cristalográfica.

O melhor processo consiste em dissolver em água distilada as manchas, de modo a obter um soluto tão concentrado quanto possível. Muitos autores aconselham que se faça esta solução em sôro fisiológico, outros que se lancem pequenos cristais de cloreto de sódio sobre a preparação.

Fundam-se em que o cloreto de sódio existente no sangue não é suficiente para a produção dos cristais.

Dervieux e Corin não fazem uso do cloreto de sódio. Nos meus trabalhos, consegui sempre obter os cristais de hemina, sem que fosse necessaria a adição de cloreto de sódio. Êste, alêm de desnecessário. tem o inconveniente de impedir e mascarar a reacção, quando em excesso.

Lecha-Marzo tambem não faz uso do cloreto de sódio, no seu novo e rápido processo,

Não vou descrever aqui o processo particular a cada indivíduo, pois são no seu conjuncto todos semelhantes, unicamente com variações pessoais de somenos importância.

Relatarei os processos mais vulgares e que julgo mais úteis.

A maneira de obter o soluto da mancha, varia com o estado e suporte desta. Ou se trata do macerado dum pano ensanguentado, ou do macerado do produto duma raspagem, quando a mancha está sobre madeira, cal etc. Para cada caso especial, é preciso fazer a solução da maneira mais conveniente. Seria inútil fazer uma descrição minuciosa da maioria dos casos, que se nos podem apresentar.

Obtida a solução em água distilada, com e auxilío duma pipêta depositam-se pequenas gôtas em láminas de vidro. Deixam-se secar á temperatura do laboratório, ou em estufas, mas com o cuidado de não ultrapassar 50 a 55° centígrados. A 60° centígrados dá-se a coagulação da albumina, que dificulta enormemente a reacção. A secagem pode fazer-se a uma lampada de alcool, ou bico de Bunzen, tendo o cuidado de regular sempre a temperatura, o que é fácil. A lámina de vidro deve ter uma tempera-

tura tal, que seja fácilmente suportavel pelo dorso da mão. Deve-se aquecer a lámina na periferia da gôta, de maneira a evitar que esta se alastre. Contudo, o melhor processo é abandoná-las á temperatura do laboratório. Mais demorado sem dúvida, mas maís seguro.

Se a gôta depois de sêca, não apresenta uma coloração razoavel, podemos sobrepôr uma nova gôta e deixar secar. Esta operação, em caso de necessidade, deve ser repetida mais vezes. É preciso acentuar que os crístais de hemina não se obteem com soluções muito descòradas, mas êste processo da sobreposição consegue dar sempre gôtas sêcas bem còradas.

Uma variação dêste método que me deu resultado, obtive-a servindo-me directamente de soluções sangùíneas depostas em láminas cavadas e sobre as quais fiz actuar o ácido acético, elevando a sua temperatura até á produção de vapores.

Quási sempre conseguí belos cristais de hemina e muito rápidamente.

Em geral, descrevem-se dois processos como mais usuais.

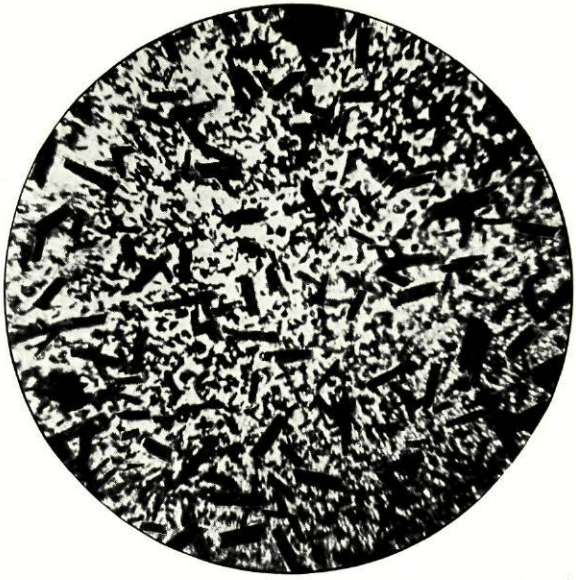
Um, o processo lento, outro intitulado processo rápido.

O processo lento obtem-se da seguinte maneira: depois de conseguirmos ter uma pequena gôta bem sêca, de concentração razoável, deposta numa lamina, com o auxílio duma pipêta lançamos uma gôta de ácido acético cristalizável em cima da mancha, tendo o cuidado de evitar que o ácido saia de cima do sangue.

Para isto, basta manter a lámina bem horizontal e proceder ao seu aquecimento, começando pela sua periferia.

Não se deve aquecer directamente o centro da preparação, porque o ácido acético salta fora e alastra a mancha, o que não é conveniente. Só o aquecimento periférico da preparação conseguirá manter o ácido acético em contacto permanente com o sangue.

Evaporado êste ácido, repete-se a operação varias vezes (8 a 10), até que o exame microscópico nos distinga os cristais de hemina. É delicada, mesmo muito delicada esta maneira de obter êstes cristais. Ogier mandou construir uma platina especial para evitar, ou antes, para facilitar este trabalho. Não é mais do que uma modificação da platina de Ranvier. Compõe-se de uma lámina metálica



(Fig. 1)



EST. XIII

(Fig. 2)

Cristais de hemina — Fig. 1 - tamanho grande
Fig. 2 - tamanho médio

(Obtida com manchas de 3 mêses)

(Símili-gravura Marques Abreu)

de forma rectangular, com uns buracos de 10 a 12 milímetros de diámetro, e situados na linha média. Esta platina é sustentada por um sistema de tres parafusos, que permitem uma horizontalidade perfeita do aparelho, e é aquecida por um pequeno bico de gaz numa das extremidades.

Sobre êsses buracos, coloca-se a parte da lámina que contem a preparação sangùínea ou suspeita. Como fica em contacto com o ar esta zona da lámina está sempre a uma temperatura inferior á da sua periferia. Assim, uma gôta de ácido encontra na sua periferia uma zona muito mais aquecida, onde a evaporação rápida impede o seu alastramento.

Dervieux diz que êste aparelho, apesar de modificar e facilitar o método, não impede que êste seja extremamente delicado e longo.

O processo rápido é tambem muito delicado e difícil.

Nêle a maceração pode ser feita directamente sobre uma lámina de vidro, com pequena quantidade de água e o seu tempo de demora varia com o estado da mancha.

O pano em que está a mancha pode ser espremido mas, como diz Dervieux, não é ne-

cessário que o soluto, isto é a gôta, fique de dimensões muito reduzidas.

Bastará que as suas dimensões sejam inferiores ás da lamela, que vai servir para cobrir a preparação. Podemo-nos servir de campánulas, onde se faz o vácuo, para concentrar as soluções diluidas, ou podemos concentrá-las pela evaporação a quente, mas de modo a não atingir temperaturas superiores a 60° centigrados. Logo que a preparação esteja bem sêca, cobre-se com uma lamela e, com uma pipêta fina, faz-se entrar entre aquela e a lámina uma gôta de ácido acético cristalizável. Coloca-se então a lamina sobre uma platina aquecida levemente e espera-se a evaporação do ácido acético. É preciso que, logo que seja atingido o ponto de ebulição, se retire a lámina, para evitar que o ácido atire fora a lamela. Tambêm se deve evitar que o calor actue quando a preparação esteja sêca.

Repete-se esta operação duas a três vezes e por último deita-se uma gôta de ácido acético, não se levando a preparação á platina.

Espera-se que o seu arrefecimento seja total e observa-se então ao microscópio.

Este processo pouco mais rápido é, mas

não necessita dos mesmos cuidados na sua aplicação.

O exame das preparações deve ser cuidadôso e deve-se de preferência vigiar os bordos da preparação. É aí que de ordinário se amontoam os cristais. Devem ser examinadas com um aumento forte, porque os cristais podem sêr muito pequenos. Use-se a ocular 1 ou 2 e a objectiva 6. A periferia da preparação sangúinea é o logar onde o ácido acético mais actuou e apresenta um aspecto fendilhado escuro. Repito, é nesse ponto onde aparecem mais cristais. Quando se emprega o cloreto de sódio em excesso, aparecem-nos os seus cristais cúbicos e outros agrupados de maneira a formarem uma verdadeira folha de feto. Estes últimos são de acetato de sódio. Os cristais de hemina formam-se lentamente, a frio, e redissolvem-se no ácido acético a quente. Quanto mais lenta fôr a evaporação final, tanto maiores e mais numerosos serão os cristais de hemina. Deve-se esperar pelo arrefecimento total da preparação e deitar por último, a frio, uma nova gôta de ácido acético. Examinando ao microscópio as preparações obtidas, vêem-se os cristais formar-se e aumentar progressivamente.

Se o exame nos sair negativo, não devemos concluir nada, sem repetir cuidadosamente as preparações.

*

Os cristais de hemina podem obter-se com quantidades mínimas de sangue e com sangue de muitos anos (10, 20, 30 e 40 anos, Dr. Lande) (1).

Há, porêm, casos, em que é impossivel obter-se cristais.

É o que acontece com o sangue misturado com ferrugem, gordura, suor, que tenha sofrido a acção dos ácidos fortes, álcalis, que tenha apodrecido antes de secar, ou que tenha sido exposto a um calor sêco intenso. Notarei. contudo, que obtive cristais de hemina com sangue aquecido a 120º.

O tanino impede tambêm a formação dêstes cristais.

Daqui se depreende que a reacção, quando negativa, não exclue a presença de sangue.

---

(1) Vitali obtêve cristais de hemina com sangue datando de 1600 anos.



Fig. 1



EST. XIV

Fig. 2

Fig. 1 - cristais de hemina - bôrdo de preparação.
Fig. 2 - cristais de iodidrato de hematina.
(Strzyzowski).

(Símili-gravura Marques Abreu)

Além disto, ha cristais que se confundem com os de hemina.

São os cristais de "murexina„. Êstes, embora vermelhos, còrám-se de violeta pela acção da potassa.

Convêm notar que os cristais de murexina não se formam no sangue pela acção do ácido acético e nós podemos examinar, antes da reacção, a lámina com sangue e vêr se existem alguns cristais. Degoust descobriu uma outra causa de erro, a qual é muito mais freqùente e perigosa.

Observou que tecidos azuis còrados pelo índigo, davam, macerados em água distiláda e pela acção do ácido acético, cristais muito semelhantes aos de hemina.

Dervieux aconselha, para desviar esta causa de erro, que se faça a reacção com o macerado do pano azul, em lugar onde não tenha sangue. Morache manda que se examinem os cristais á luz polarizada. Os cristais de hemina apresentam-se claros em fundo negro, isto é, são anisótropos, que não acontece com os outros cristais que, sendo isótropos, não aparecem á luz polarizada.

Como se vê, há sempre forma de os cara-

cterizar e as causas de erro são poucas e podem sêr desviadas.

*

Várias modificações teem sido introduzidas nêste método, todas tendentes a abreviá-lo, a facilitá-lo. Richter manda deixar a mancha suspeita, em ácido acético a 40°, durante algumas horas.

Corin trata as manchas por amoníaco. O soluto obtido é evaporado lentamente e o resíduo tratado pelo ácido acético.

Guming e Van Geun dissolvem a mancha em iodeto de potássio e precipitam por meio do acetato de chumbo, um corpo sobre o qual preparam os cristais de hemina.

Otmann lava a mancha com éter, dissolvendo assim qualquer gordura, a que atribúi a maior parte dos seus malôgros.

Strassmann evapora rápidamente o ácido acetico e, com uma nova gôta, deixa fazer uma segunda evaporação lenta — Êste processo deu-me sempre um resultado muito satisfatório.

Carracido, de Madrid, substitúi o ácido acético pelo ácído clorídrico. Experimentei vá-

rias vezes êste método, sem conseguir resultados úteis

Lecha-Marzo de Valladolid — obtem cristais de hemina, fazendo uma evaporação muito rápida com o ácido acético, ou ácido fórmico, em sangue sêco em laminas porta-objectos. (1) A preparação é mais fácil com o ácido fórmico que com o ácido acético. A evaporação faz-se á chama duma lampada de álcool, ou bico de Bunzen. É preciso retirar a preparação antes que os ácidos desapareçam. Nas minhas experiências sobre este tão rápido método, verifiquei que é conveniente lançar uma nova gôta de ácido, deixando-a evaporar lentamente. Muito me apraz deixar aqui exposto êste novo processo, que tão bons resultado me deu. Os cristais que se obtem são numerosos e raras vezes me foi preciso repetir a operação.

As outras e mais importantes modificações merecem uma descrição mais pormenorizada.

(1) Tenho em meu poder belas microfotografias de cristais obtidos por êstes processos, amávelmente cedidas pelo professor Dr. Lecha-Marzo.

CRISTAIS DE STRZYZOWSKI, OU DE IODIDRATO DE HEMATINA

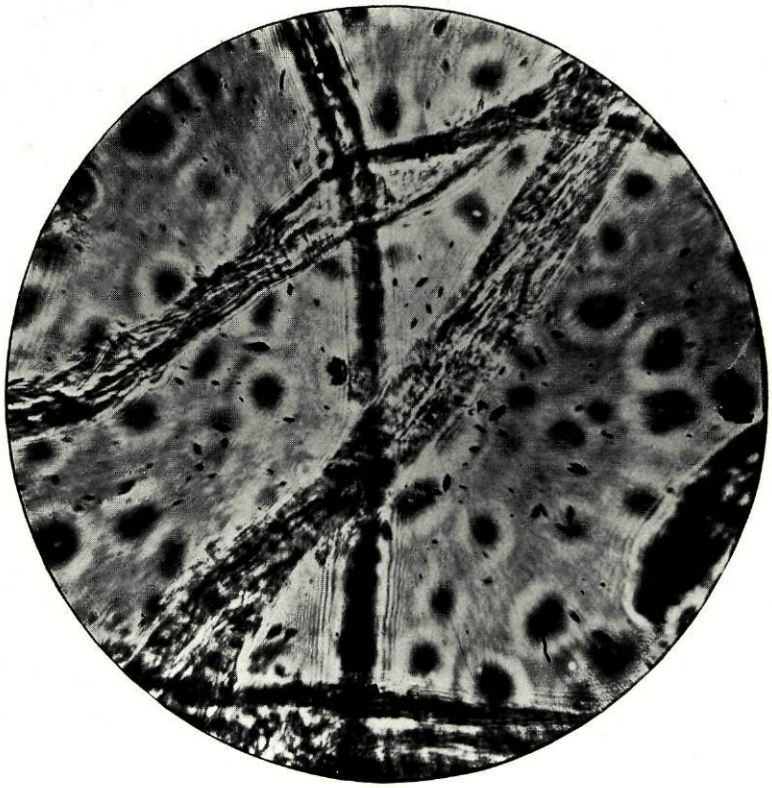
Êstes cristais em forma de losango, de dimensões inferiores aos de Teichmann, obteem-se com o reagente proposto por Strzyzowski, que tem a seguinte fórmula:

Álcool a 90°.
Água distilada } ãná 1 c. c.
Ácído acético glacial
Ácido iodídrico incolor — 2 gôtas.

Se o ácido iodídrico estiver avermelhado, convêm deítar 3 a 4 gôtas, para obter um bom reagente.

Esta reacção é muito mais sensível que a de Teichmam. Pode fazer-se (fig. 2 Estampa XIV e Estampa XV), com fragmentos do tecido, onde estiver a mancha.

Basta dissociar çom duas agulhas finas uns fios do pano manchado, colocá-los entre uma lámina e uma lamela bem limpa, depositando com uma pipêta, no ángulo da lamela, uma gôta do reagente. Êste, por capilaridade, molha todo o espaço ínfralamelar. Aque-



EST. XV

Cristais de Strzyzowski
(obtidos com mancha de 4 mêses)

(Símili gravura Marques Abreu)

ce-se depois brandamente até á emissão de vapores, tendo o cuidado do renovar o reagente, evitando que a preparação possa secar. Esta reacção é muito rápida e sensível e obtem-se com parcelas ínfimas de sangue. Obtive-a posi- com fragmentos duma peça mumificada do museu, depois de os ter lavado pelo éter, afim de evitar que a gordura impedisse a formação dêstes cristais.

Dervieux obteve cristais com fragmentos de uma múmia de 4 mil anos. O reagente de Strzyzowski altera-se no fim de algumas horas. É necessário prepará-lo sempre de fresco.

*

Êstes cristais são facílimos de obter e é interessante citar que Teichmam já indicava que o cloreto de sódio podia ser substituido por iodeto ou brometo de sódio, obtendo-se assim respectivamente o iodidrato e bromidrato de hemina. De todos os processos cristalográficos, parece-me ser este o que vem destronar o de Teichmam.

Impõe-se a todos os outros pela sua simplicidade, dando resultados garantidos e rápidos.

Além disso, é duma especificidade e sensibilidade assombrosa. Basta citar que foi a única reacção que Dervieux conseguiu obter com uma mumia de 4.000 anos.

Não quere isto dizer que se não tente todas as vezes a obtenção dos cristais de hemina, mas é preciso notar que êstes últimos são difíceis de obterem numerosos casos, e estão dependentes de *tours de main* de preparação.

CRISTAIS DE CLORO, BROMO E IODO-HEMATINA

Ao professor Lecha-Marzo se devem os melhores trabalhos sobre este assunto.

A sua infatigável pertinácia levou-o á descoberta de novos processos, que hoje vão sendo postos em prática.

Guiado pelos seus esplêndidos trabalhos, consegui repetir com êxito as suas experiências e compreender o grande alcance que num futuro rápido obterão os seus métodos.

Lecha-Marzo baseia os seus novos métodos no tratamento do sangue por redutores e halogénios.

Como redutores, serve-se da piridina e do

sulfidrato de amónio e os halogénios, encontra-os no iodo, cloro e bromo. Variando de halogénio, obtem cristais de iodo, cloro, bromohematina, misturados com cristais de hemocromogénio.

Com o iodo, formam-se cristais de côr violeta; com o cloro, cristais de côr vermelha intensa e finalmente com o bromo, cristais mais nítidos ainda que os de iodo-hematina.

Para obter os cristais de iodo-hematina, serve-se da solução iodo-iodetada aquosa da seguinte formula:

Iodo	— 1 gr.
Iodeto de potássio	— 2 gr.
Água distiláda	— 100 gr.

Tambem se pode fazer uso da solução alcoólica, que tem a seguinte formula:

Iodo	— 4 gr.
Iodeto de potássio	— 2 gr.
Álcool a 90º	— 100 gr.

Na lámina de vidro, concentra-se por evaporações sucessivas a solução sangùínea, ou suspeita.

Junta-se uma gôta de qualquer dêstes solutos, a seguir uma gôta de píridina e em quantidade menor o sulfureto de amónio. Cobre-se com uma lamela e observa-se ao microscópio. A cristalização não se faz esperar, podendo vêr-se os cristais de íodo-hematina de mistura com os de hemocromogénio.

Se substituirmos o reagente iodado pela água clorada, ou bromada, assim obteremos cristais de cloro ou bromo-hematina.

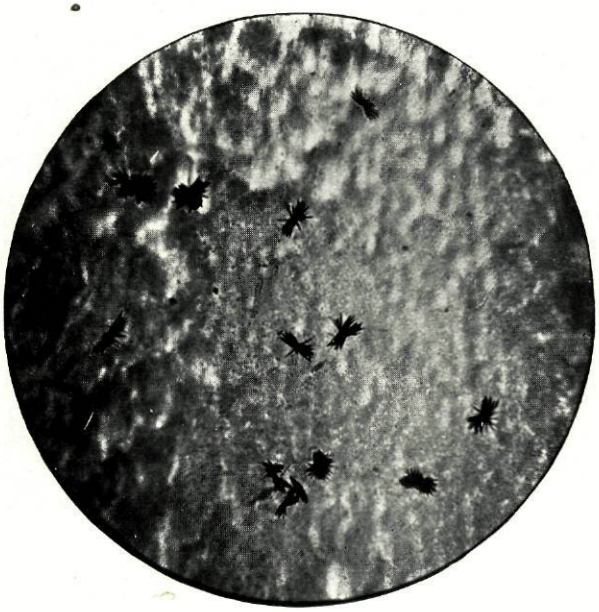
Rossi considera estes métodos como excelentes para a prática médico-legal. Rossi em vez da água clorada, serve-se dum soluto de clorato de potássio a 3 %.

Lecha-Marzo, servindo-se destes reagentes, obtem cristais com sangue recente, ou putrefacto.

Sarda e Obregon obtiveram cristais com manchas de 8, 10, 15 e 37 anos de idade.

Rossi contudo, julga este método superior ao de Teichmam, só quando as manchas são solúveis em água distilada, mas quando se tenha que recorrer aos dissolventes alcalinos, tais como, soda, amoníaco, etc., não lhe encontra nenhumas vantagens.

Lecha-Marzo trata estas manchas insolú-



EST. XVI

Hemocromogénio ácido
Cristais obtidos a frio, tratando o sangue por piridina, hidroquinôna e ácido fórmico.

(Símili-gravura Marques Abreu)

veis em água, directamente pela piridina. Para isso, serve-se de uma pequena parcela do tecido manchado, um fio por exemplo, e leva-o debaixo de uma lamela ao microscópio.

A acção da soda e do amoníaco não contraria a obtenção dêstes cristais, auxília-a até muitas vezes.

O uso do amoníaco como dissolvente é até muito de aconselhar.

É um dissolvente de primeira ordem, mesmo de sangue velho, putrefacto; não dissolve a ferrugem, nem o índigo e torna os tecidos muito transparentes, próprios para exames microscópicos. Acresce ainda a circunstância de se poder volatilizar com extrema facilidade.

*

Estes métodos são sensíveis e fáceis de obter. O calor muito moderado auxilia a formação dos cristais, mas o calor intenso impede a sua realização, redissolvendo os cristais formados. Estas reacções dão-se a frio, mas a cristalisação é lenta e os cristais formados são de tamanho inferior aos que se obtêem, auxiliando a reacção com um calor muito brando.

Podemos afirmar que, no excesso de temperatura, está a causa de todos os malôgros.

Constitúi um método devéras interessante e útil em medicina legal. As minhas experiências mostraram-me que, para se conseguir sempre um êxito seguro, é preciso aliar aos conhecimentos citados uma prática longa das reacções. Há, como já disse, maneiras de fazer, pequenos *tours de main,* que não podemos descrever fácilmente.

CRISTAIS DE HEMOCROMOGÉNIO

Nas paginas anteriores referi-me várias vezes aos cristais de hemocromogénio, que são extraordináriamente interessantes. Obtinham-se juntamente com os de cloro iodo-e bromo-hematina, dos quais, porêm, se distinguiam pelo seu agrupamento, côr carregada e diferentes dimensões.

Obtidos por meio de redutores como a piridina, soda e sulfidrato de amónio, formavam-se, portanto, em meio alcalino.

Em 1907, o ilustre professor Lecha-Marzo, propunha a obtenção destes cristais em meio ácido,

Tratava o sangue humano pela piridina e por um soluto aquoso e fraco de ácido pirogálhico. Novos trabalhos devidos ao mesmo autor, vieram tornar importantes todas estas pesquisas, que podem ser aplicadas em medicina legal.

Segundo Lecha-Marzo, os cristais de hemocromogénio obtidos em meio alcalino não são estáveis, desaparecem ao contacto do ar etc.

Obtendo-os em meio ácido, tornam-se muito mais resistentes, pois sustentam a acção da piridina e xilol.

Lecha-Marzo apresenta uma enorme lista de corpos químicos, que provocam a formação e cristalização do hemocromogénio.

1.º *Tratamento do sangue pela piridina e hidroquinôna (soluto aquoso).* Cristalização abundante e rápida.

2.º *Piridina, hidroquinôna e ácido acético.* Cristais largos, agrupados em estrelas, símulando vegetações.

3.º *Piridina, hidroquinôna e ácido fórmico.* Cristalização rápida a frio.

4.º *Piridina hidroquinôna e ácido láctico.* Cristalização rápida, menos sensível que a anterior.

5.º *Piridina, hidroquinôna e ácido cítrico.*
6.º *Piridina, hidroquinôna e ácido oxálico.*
7.º *Piridina e ácido cítrico,*
8.º *Piridina e ácido oxálico — Rosêtas de cristais ovóides.*
9.º *Piridina e ácido tánico (necessita ser auxiliada por calor brando).*
10.º *Piridina, ácido tánico e ácido acético.*
11.º *Piridina e nitrato de piridina* (sol. aquosa).
12.º *Piridina, nitrato de piridina e ácido pirogálhico* (crist. a frio, ou a quente).

Os reagentes devem sêr preparados na ocasião.

Todos êstes métodos dão o hemocromogénio cristalizado na forma de agulhas, estrelas ou cristais ovóides. As Estampas XVI, XVII e XVIII mostram diferentes aspectos dos cristais de hemocromogénio. Quasi todos foram obtidos a frio, porque o calor embora ajude a reacção, torna-a delicada pela dificuldade que há em regular bem a sua temperatura.

A técnica usada foi a seguinte, que aliás é aconselhada pelo próprio autor: "Concentra-se e seca-se o sangue, ou material suspeito, numa

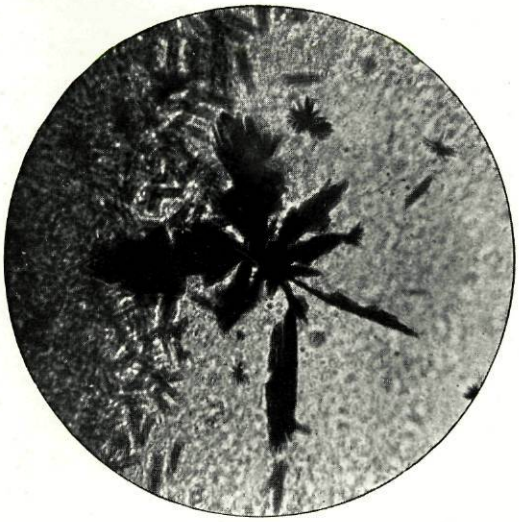
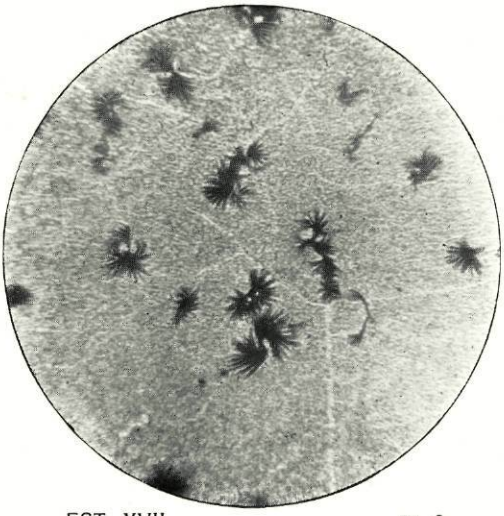


Fig. 1



EST. XVII

Fig. 2

Fig. 1 — Grande cristal de hemocromogénio, obtido tratando o sangue por piridina, hidroquinôna e ácido acético.

Fig. 2 — Hemocromogénio obtido tratando o sangue por piridina, hidroquinôna e ácido fórmico.

(Sfmili-gravura Marques Abreu)

lámina de vidro. Junta-se-lhe sucessivamente uma gôta de cada um dos reagentes indicados nos diferentes métodos, cobre-se com uma lamela, e aquece-se lentamente a calor muito brando. Momentos depois, já se podem observar cristais de hemocrómogénio.

Quando a reacção se faz a frio, tem que se parafinar o bordo da preparação.

Com o método da piridina, hidroquinôna e ácido fórmico, devem-se fazer observações repetidas, sendo a ultima vinte e quatro horas depois.

Dos métodos que ensaiei, é êste o mais cómodo e que melhores resultados me deu. São métodos interessantes, mas como meios práticos julgo-os inferiores aos citados processos de cristalização de cloro-bromo e iodo-hematina.

A reacção de Strzyzowski é mais fácil de obter e depende tambêm de uma pequena quantidade de material. As fotogravuras que acompanham este assunto, foram feitas com sangue humano de diversas idades, e em diferentes estados de conservação. O professor Lecha-Marzo cedeu-me algumas fotografias, de hemocromogénio cristalizado, que teem

uma semelhança absoluta com as minhas provas obtidas segundo os seus métodos.

Os cristais, alguns de grandes dimensões, conservam sempre uma côr vermelha escura, raras vezes castanha e encontram-se misturados com cristais de hemina etc. É o que se observa nas Estampas, XVII fig. 1 e XVIII fig. 2.

Processos histo-microscópicos

Os processos histo-microscópicos são de um notável alcance no estudo médico legal das manchas. A verificação directa dos elementos, que normalmente constituem o sangue, é a melhor e mais segura prova da sua presença em qualquer mancha.

O exame histológico deve, pois, tratar de descobrir glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e fibrina.

Raras vezes se apresentam ao analista manchas frescas, onde o exame directo é suficiente para provar a sua natureza. Na maior parte dos casos, as manchas estão envelhecidas, deterioradas pelos inumeros agentes externos, modificando-se totalmente o aspecto dos seus glóbulos. Os glóbulos brancos resístem mais,



Fig. 1



EST. XVIII

Fig. 2

Fig. 1 - Hemocromogénio - Tratamento do sangue por piridina e hidroquinôna (a frio)

Fig. 2 - Hemocromogénio - Grande cristal obtido com piridina, hidroquinôna e ácido acético (a frio)

(Similigravura Marques Abreu)

mêsmo muito mais, que os rubros e não nos devemos esquecer de os procurar sempre com cuidado, muito especialmente quando os glóbulos rubros desapareceram em virtude de processos hemolíticos.

O processo de dissecação das manchas faz variar o modo de investigar microscópicamente a sua natureza,

Quatro casos se podem dar:

1.º *Sangue estêndido em camada fina* — seca rápidamente, formando uma espécie de verniz, que protege os glóbulos rubros, conservando-os intactos. *Investigação directa pelo aparelho de Florence.*

2.º *Manchas pouco extensas, mas ricas de sangue* — secam menos rápidamente. Sómente existem glóbulos integros debaixo da crosta. *Preparações histológicas, para pôr em evidencia os glóbulos rubros.*

3.º *Sangue sêco em más condições — Desaparecimento dos glóbulos rubros por hemólise. Investigar a presença de glóbulos brancos e de fibrina.*

4.º *Sangue putrefacto. Resultado negativo nos exames histologicos.*

De várias maneiras podemos, pois, proceder nos exames histológicos das manchas. È preciso antes que tudo observar que os glóbulos rubros raramente se encontram intactos. As modificações na forma e dimensões são grandes e embora se usem reagentes próprios para a sua reconstituição, esta nunca atinge uma perfeição razoavel sequer.

Apresentam-se reduzídos, crenulados, encarquilhados, partidos, umas vezes isolados, outras agrupados em montões, ou dispostos como moedas empilhadas.

Regenerá-los completamente é impossível, mas ainda assim, é muito útil a aplicacão de vários reagentes, que facilitam o seu exame.

Com êsses reagentes, se fazem as macerações. Quando estão suficientemente còradas, dissocia-se uma porção do tecido e juntamente com uma gôta do macerado, faz-se uma obseruação microscópia. Os glóbulos rubros, descòrados, encontram-se juntamente com a fibrina e glóbulos brancos agarrados ás málhas do tecido. A fibrina forma uma verdadeira rêde de filalamentos granulosos, de côr cinzenta. Os glóbulos vermelhos não resistem as bases e aos ácidos. Convêm, pois, não os levar ao contacto das

preparações, excepto quando se queira desviar um erro freqüente, que se comete confundindo os glóbulos rubros com os esporos arredondados e acastanhados, de alguns fungos. Êstes resistem á acção dos ácidos e bases e estão dispostos topo a topo, aos 2 ou 3.

Muitos e muitos são os solutos que se teem proposto, com o fim de conservar e regenerar os glóbulos.

Desde o sôro sangüíneo, cujo uso pode levar a erros, porque é impossível uma filtragem completa, de modo a retirar-lhe todos os glóbulos rubros, até ao liquido amniótico, perigoso por ter sempre celulas e leucocitos, tudo tem sido aconselhado por diferentes autores. Compreende-se que, sendo menos sujeitos a erros, são preferiveis os soros e líquidos artificiais.

Nas minhas experiências servi-me de várias soluções, obtendo bons resultados muito especialmente, com o sôro fisiológico a 8 $^{0}/_{00}$ e com o líquido de Vibert, cuja formula é:

Bicloreto de mercúrio	— 0,5 gr.
Cloreto de sódio	— 2 gr.
Água distiláda	— 100 cent. cub.

Tem contudo, este líquido o inconveniente de ser demorado na produção de um macerado rasoável e produz muitas e numerosas granulações na preparação.

Citarei tambem outros reagentes, cujo uso foi muito preconizado pelos seus admiradores.

LÍQUIDO DE ROUSSIN

Glicerina — 300 gr.
Ácido sulfúrico conc. — 100 gr.
Água distiláda — q. b. para obter uma densidade de 1,028

SOLUTO IODADO DE RANVIER

Água distiláda — 100 cent. cub.
Iodeto de potássio — 2 gr.
Iodo — 9 l. p. soturar.

LIQUIDO DE PACINI

Bicloreto de mercúrio — 1 gr.
Cloreto de sódio — 2 gr.
Água distiláda — 200 cent. cùb.

Êste reagente é muito semelhante ao de Vibert, mas dá maior numero de granulações.

SOLUTO DE TAILOR

Glicerina — 10 gr.
Água distiláda — 30 gr.

Solutos aquosos de sulfáto de sódio a 5 %
Solutos de potassa cáustica a 32 ou 33 % (recomendado por Wirchow).
Soluções de sulfato de sódio, goma arábica e açucar, com densidade da mistura de 1,020.

SORO DE SCHULTZE

Líquido amniótico còrado levemente por tintura de iodo.
Êste método é perigoso.

LÍQUIDO DE AFANASSIEW

Peptona — 0,6 gr.
Cloreto de sódio — 0,75 gr.
Água distiláda — 100 cent. cúbicos

Violête de metílo na proporção de $^1/_{10.000}$ até $^1/_{20.000}$ e aquecer o líquido até fervura franca.

LÍQUIDO DE HAYEM

Sublimado corrosivo	— 0,5 gramas
Sulfato de sódio	— 5 „
Cloreto de sódio	— 1 „
Água distiláda	— 200 c. c.

O Dr. Pacheco de Miranda, no seu trabalho sobre este assunto, elogia-o e aconselha-o. Pela minha parte, direi que não obtive resultados melhores que com a potassa simples, ou com o liquido de Vibert.

SORO DE MALASSEZ E POTAIN

Solução de goma arábica, de densidade 1,020 — 10 centimetros cubicos.

Sol. de sulfato de sódio } de densidade de 1,020 } aná 20 c. c.
Sol. de cloreto de sódio }

Por cada 15 c. c. do sôro, uma gôta de soluto de sub-carbonato de potássio a 50 %.

LÍQUIDO DE PUPPE

Lexívia de potassa } aná 20 c. c.
Formalina }

Moser — manda meter as manchas, depois de cortadas em pequenos fragmentos, numa mistura de álcool e éter, durante 12 a 24 horas. Depois, com uma lámina, um bisturi, retira-se uma ligeira camada de sangue e coloca-se em glicerina pura, ou em:

Água	— 100 c. c.
Glicerina	— 20 gr.
Licôr de acetato de potássio	— 10 gr.

Córa-se com uma solução aquosa de eosina e observa-se ao microscópio.

O Dr. Lande (Bordeus) aconselha tres processos diferentes:

1.º Raspar a mancha, ou dissociar um pequeno fragmento. Separá-lo bem com o auxilio de agulhas, numa lamina de vidro bem limpa pelo álcool e éter. Juntar-lhe uma gôta de alcool

absoluto e evaporar a calôr brando. Os fragmentos ficam assim fixos á lamina e coram-se pelo Leishmann, pela eosina, ou tionina fenicada.

— Êste processo é útil, quando se trata de manchas recentes, nas quais os glóbulos estejam levemente deformados. É um processo rápido e cómodo.

2.º Fazer um macerado da mancha em cloreto de sódio a 8 ou 9 ‰ e esperar que obtenha uma coloração suficiente. Centrifugar, e examinar o depósito numa lámina, depois de fixo e còrado pelos processos vulgares.

Experimentei várias vezes este método — Realmente, presta bons serviços e consegue fazer uma preparação rica em glóbulos.

3.º Fragmentar a mancha em pequenos rectângulos.

Fixar uma hora em álcool absoluto, passar depois outra hora a benzina, ou xilol.

Incluir em parafina fusível a 54.°. Duas horas a 58.°, na estufa.

Proceder finalmente aos córtes. A fim de se obstar ao esfarelamento do tecido, quando se fazem os córtes, pode-se trata-lo pelo ácido fórmico, ou formol, e substituir a benzina pela acetona. Os córtes são fixos com gelatina formolada, desenbaraçados de parafina e lavados pelo álcool absoluto.

Finalmente, coram-se pelos processos usuaes.

Experimentei largamente êste novo método e vi quão dificil era obter cortes finos, sem reduzir o tecido a fragmentos impossíveis de reter na lámina. Alêm disso, o processo é demorado não compensando pelos seus resultados todo o trabalho.

Em várias tentativas, só umas quatro ou cinco vezes obtive preparações razoáveis.

Convêm citar ainda o método da impressão das manchas em peliculas fotográficas, ou mesmo em papeis gelatinados.

Pena é que estas preparações não se prestem muito a ser còradas, o que torna mais difícil a descoberta dos glóbulos.

A observação das películas faz-se no

microscópio, a dos papeis com o aparelho de Florence.

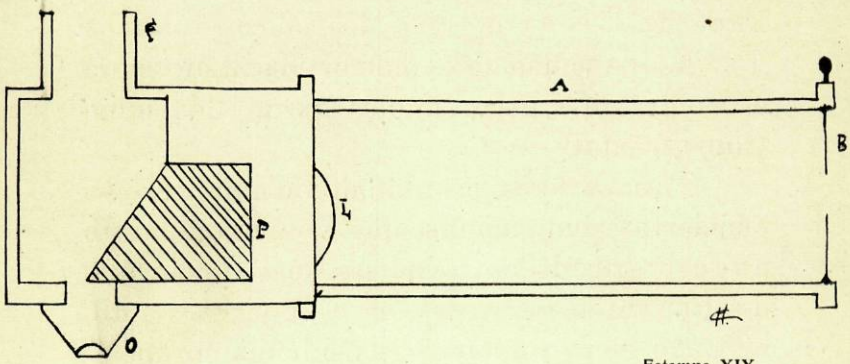
As películas dão melhor resultado para êstes exames, pela simples razão de serem transparentes.

Os caractéres dos glóbulos sangùíneos são demasiadamente conhecidos e por essa razão abstenho-me de os citar. As suas dimensões, que variam largamente com os diferentes autores, não teem importancia nenhuma em medicina legal, como meio de diagnóstico diferencial.

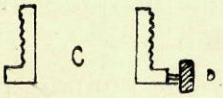
APARELHO DE FLORENCE

M. Florence inventou um aparelho simples, de iluminação interna e lateral, que tem a vantagem de poder servir para examinar directamente o sangue em objectos opacos, taes como láminas, fragmentos de porcelana, pedras, pedaços de estuque, papeis, etc.

A Estampa XIX representa um esquêma dessa objectiva. Como se vê, consta essencialmente dum prisma de reflexão total, situado dentro da *monture* da objectiva, enviando os raios recebidos, através desta para o campo microscópico. Êsse prisma reflecte os raios



Estampa XIX



ESQUÊMA DO APARELHO DE FLORENCE

A — Tubo recétor
B — Diafragma
L — Lente convergente
P — Prisma de reflexão total
O — Objectiva n.º 7
C — Anel de segurança que se aplica directamente ao revolver do microscopio
D — Botão de pressão

luminosos, tornados paralelos pela lente convergente L, situada no eixo do tubo metálico A. Êste tubo tem na sua extremidade distal um diafrágma íris, excêntrico. O aparelho é munido duma objectiva N.º 7.

Para montar êste aparelho tiram-se as objectivas dum microscópio vulgar e aparafusa-se no revólver o pequeno anel C, de segurança.

Ao depois, com todo o cuidado, introduz-se no anel C, a parte cilindrica F do aparelho e aperta-se com o botão *D*, de maneira que o tubo A fique imobilizado na direcção da fonte luminosa.

Para focar o aparelho, é preciso tomar certas precauções, para impedir a deteriorização da objectiva. O campo só começa a sêr iluminado, quando a objectiva está muito próxima do objecto (1 mm.)

O melhor é aproximar primeiro a objectiva a 1 mm, do objecto a examinar e em seguida dispôr a fonte luminosa de maneira que se encontre ao mesmo nível e a uma distancia de 25 a 50 cm. conforme o seu poder iluminante.

Verifica-se que nesta situação, só uma parte do campo é iluminada, mas, focando

bem, as minúcias aparecem e o campo ilumina-se uniformemente.

O diafrágma serve para regular a entrada da luz. Nos meus trabalhos, notei que êste aparelho é tanto mais sensível, quanto menor fôr a sua iluminação, isto dentro de certos limites.

Com uma iluminação intensa, os detalhes desaparecem.

*

Este aparelho vem, sem duvida, prestar valiosos auxílios, mas é de um emprego delicado e difícil. Em geral, os objectos a examinar não são nada planos e a focagem é penosa e pouco nítida. Alêm disso, a própria mancha tem saliências e depressões, que mais aumentam as dificuldades em obter bons resultados. Junte-se ainda a dificuldade em distinguir os glóbulos quando estão alterados e depois se compreenderá quão laboriosas são estas pesquisas.

Muitas vezes, creio que será preciso adivinhar os glóbulos rubros. Em preparações frescas, ou recentes, feitas para demonstrações, então obtem-se belos resultados.

Servi-me dêste aparelho para examinar uma pedra ensangùentada, que tinha servido como arma num assassinato. Desanimei, porêm, no fim de várias tentativas, por não poder obter um foco nítido.

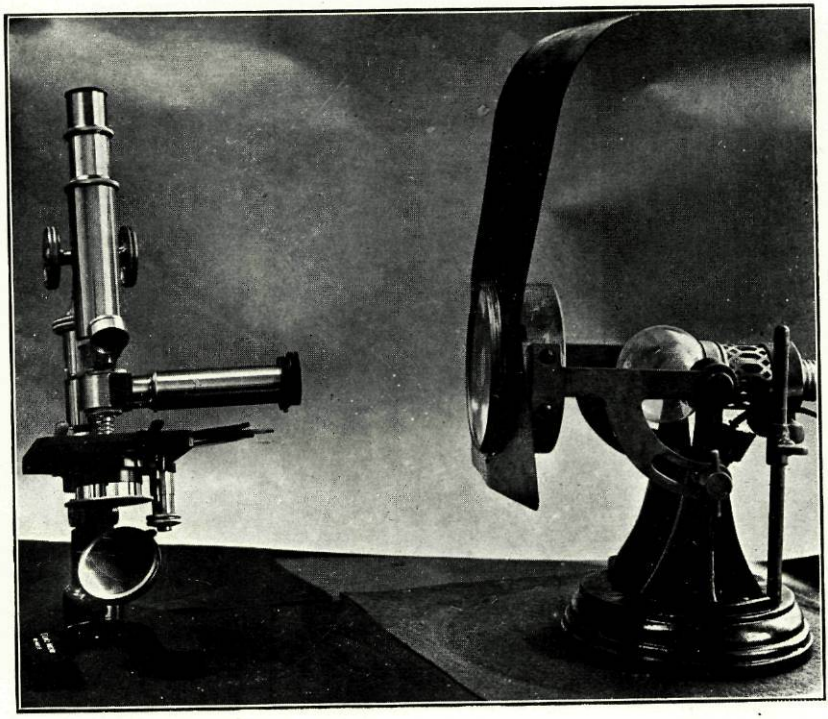
As rugosidades do granito ameaçavam sempre partir, ou arranhar a objectiva.

Em láminas, é mais fácil obter um bom foco, quando estas não tenham uma secção triangular exagerada. A Estampa XXI é a fotogravura de uma preparação obtida numa lámina de navalha Gilette. Apesar de ter sido lavada várias vezes conservava ainda, junto da ferrugem, numerosos glóbulos rubros.

Fraenckel descobriu glóbulos rubros numa arma, datando de 1779, que tinha sido declarada isenta de sangue por Liman.

Dominicis, diagnosticou a natureza de pequenas manchas, de 17 anos de idade. O mesmo aplicava o aparelho de Florence nas pesquisas de sangue em tecidos, papéis, cartões etc.

Em suma: o aparelho de Florence pode ser útil em muitos casos, mas não pode servir correntemente na prática médico-legal. O seu manuseamento é delicado, dificil e algumas vezes impossível.



EST. XX

Aparelho de Florence montado num microscópio vulgar.

Iluminação por meio da lampada de Ernest.

(Símili-gravura Marques Abreu)

Manchas confundiveis com as de sangue

A *ferrugem* ocupa o primeiro lugar entre as substàncias que podem dar manchas semelhantes ás do sangue no seu aspecto externo. Observemo-las nas láminas e nos tecidos.

Nas láminas, apresentam uma côr acastanhada ou mesmo avermelhada e embora rugosas teem muitas vezes um brilho semelhante ao do sangue.

Tratadas pelo ácido clorídrico desaparecem, limpando o metal.

O pó obtido da sua raspagem é insolúvel em água, solúvel em ácido clorídrico, dando-lhe uma côr amarela (percloreto de ferro),.

Êsse soluto precipita em azul, (azul da Prussia), pelo ferrocianeto de potássio, e em negro pelo tanino (tanato de ferro).

Nas láminas, tambêm o *citrato de ferro* (muitas vezes resultante de se ter cortado um limão) semelha manchas de sangue. Tem uma côr pardo-avermelhado e as suas manchas destacam-se fácilmente pelo aquecimento a 30.º, como acontece ao sangue. Estas manchas são insolúveis na água, solúveis no ácido cloridrico, donde se pode, com a noz de galha, obter um

precipitado violete e com os álcalis um precipitado vermelho, ou verde, conforme o ferro se acha no estado de sexquióxido, ou de protóxido.

A *ferrugem* nos panos assemelha-se a manchas de sangue lavadas, mas não são solúveis em água e desaparecem com a acção do ácido clorídrico.

Florence aconselha a tratál-as por ácido clorídrico, evaporar o excesso de ácido, juntar água e fazer actuar o sulfocianeto de potássio, que dá uma coloração rosea, ou vermelha, conforme a quantidade de ferro existente.

Os *excrementos de pulgas*, moscas e percevejos dão origem a manchas de aspecto idêntico ás do sangue, mas que fácilmente se distinguem por um exame atencioso.

As manchas produzidas pelas pulgas, são arredondadas, mais ou menos ovais, cobertas duma crosta rugosa e irregular teem uma côr de tijolo, vermelho castanha e apresentam na sua parte média e central uma pequena saliência.

Dissolvem-se com dificuldade, dão o espectro da oxi-hemoglobina e dão origem aos cristaís de hemina.

O exame microscópico revela a presença

de finas granulações avermelhadas, ou amarelas e de grande refrangibilidade. Estas granulações são insolúveis na água, ácido acético e solúveis no éter e álcool quente.

Vibert, Vulpian e Brouardel encontraram nestas manchas, glóbulos rubros isolados e intactos. Vilbert atribúi estas manchas a pequenas hemorragias consecutivas á picada das pulgas e pensa que muitas vezes é impossível dizer se se trata de sangue puro, se de excrementos de pulgas.

Os percevejos e moscas deixam também manchas de aspecto duvidoso. No exame espectral, revelam a oxi-hemoglobina e dão a reacção de Teichmam. Ao microscópio revelam glóbulos rubros, cristais prismáticos, romboidais e pequenas gôtas sêcas, cujo diametro é de 1 a 10 micras.

São esféricas ou ovóides, de côr vermelho-castanho, umas vezes isoladas, outras aglomeradas.

Estas manchas teem grande quantidade de ácido úrico, o que não sucede com as de sangue (Florence).

As manchas *de suor,* que dão muitas vezes uma côr amarelada aos panos brancos,

também se podem confundir com as de sangue, mas o seu local e ausência de reacções sangùíneas diferençam-nas fácilmente. Os pontos onde se encontram essas manchas são ao nível das axilas, nos punhos, colarinhos etc.

O suor nos tecidos azúis dá manchas de côr avermelhada.

O *vinho* dá manchas violêtes, que se coram de vermelho pela acção dum ácido fraco e retomam a côr azul pela acção duma base.

Cerejas, groselhas e *framboezas* dão tambem manchas còradas. Dissolvem-se com dificuldade na água distilada, não dão o dicromismo com a potássa e teem um cheiro muitas vezes especíal.

Ao exame microscópico revelam grãos de amido, fragmentos de vegetais.

Os grãos de amido, que tendo uma côr amarelada, foram muitas vezes confundidos com glóbulos rubros, tumefazem-se com o líquido de Wirchow e coram-se de violêta com a água iodada. As manchas amiláceas dão a reacção da albumina e de Van Deen.

As matérias fecais dão manchas de côr amarelada, ou castanho-escuro, conteem colesterina, células epiteliais, detritos animais e vegetais e granulações biliares.



EST. XXI

Globulos sangùineos existentes numa lámina Gileite de navalha de barba, que tinha sido lavada várias vezes.

Aparelho de Florence.

(Símili-gravura Marques Abreu)

— São, pois, muitas as substancias que produzem manchas semelhantes ás do sangue e algumas com reacções muito idênticas.

Citam-se as das pulgas, percevejos e moscas, que dão reações espectrais, crìtalográficas e denunciam ao exame microscópico a presença de glóbulos vermelhos.

São de todo confundíveis e só o critério, do analista poderá intervir, para duma maneira razoável dár o seu diagonóstico.

Parece que essas pequenas manchas, quando não tenham pelo seu agrupamento um carácter especial (jacto de arteria etc), devem sêr abandonadas. Este é o conselho de Dervieux e parece muito ajuizado.

A prática e bom senso do analista decidirão êstes casos com todo o escrúpulo.

*
* *

Concluindo, julgo necessário dar uma notícia seriada e em conjuncto das reacções proprias para establecer o diagnóstico seguro de uma mancha de sangue.

Como observações preliminares, julgo dis-

pensáveis, se não perigosas, todas as chamadas reacções de probabilidade do sangue.

Um analista hábil e prático faz mais com os olhos do que com essas reacções todas.

A melhor probabilidade de se tratar duma mancha de sangue é tirada do seu exame externo.

Como reacções de certeza, únicas que importa fazer, temos as cristalográficas, espectrais e microscópicas. Quer umas, quer outras, são excelentes e devem-se tentar sempre todas, para melhor segurança dum diagnóstico.

A reacção de Strzyzowski é absolutamente prática, fácil es ensível. As reacções cristalográficas dos sais de hematina e hemocromogénio devem constituir uma contra-prova útil.

Entre os espectros, tentaremos conseguir o da oxi-hemoglobina e reduzi-lo para contra-prova.

O espectro do hemocromogénio servirá para as pequenas manchas, em observação espectromicroscópica.

Os exames histo-microscópicos serão usados, sempre que seja possível, porque além de constituirem a melhor prova, quando positivos, dispensam novas pesquisas.

Proposições

Anatomia descritiva — A artéria anastomótica de Salvi é a mais importante anastomose entre os grupos tibial anterior e posterior.

Anatomia topográfica — O centro da linguagem não é o pé da 3.ª frontal, mas sim uma fracção dêste, que está por determinar.

Histologia — O corpúsculo para-nuclear é mais constante na célula glandular altamente diferenciada.

Fisiologia — O aumento do poder de coagulação do sangue das grávidas explica a rápida trombose venosa e fisiológica na dequitadura.

Patologia geral — O estudo da bacteriologia leva-nos a condenar os antissépticos.

Anatomia patológica — O histo-diagnóstico diferencial entre os poliadenomas e carcinomas é por vezes impossível.

Matéria médica — O lantol é preferível aos outros coloidais.

Patologia externa — A helioterapia modifica a evolução da doença de Paget.

Patologia interna — A enterite muco-membranosa é a doença da moda.

Higiene — A demolição dos prédios insalubres impõe-se como medida preventiva contra a tuberculose.

Operações — Na pilorectomia, a laqueação da coronária estomáquica não deve constituir o primeiro tempo da operação.

Clínica cirúrgica — Á colecistostomia deve preferir-se a colecistectomia.

Clínica médica — A alimentação bem regulamentada é o factor principal da cura da maior parte das doenças.

Partos — O exame seriado do pulso no post-partum, é mais importante que o da temperatura.

Medicina-legal — O estudo dos póros e orifícios sudoríparos nas impressões digitais constitui um elemento útil de identificação.

VISTO.

Brandão.

IMPRIMA-SE.

Pinho.