

## Lista de Acessórios

### Acessórios fornecidos

- 10 tubos de teste
- 5 filtros de cristal óptico com 5 lentes de diferentes comprimentos de onda
- 2 lâmpadas de 6V-0,5A;
- Manual de instruções
- 1 Fusível de 2A - 250v;
- Capa plástica

### Acessórios opcionais (vendidos separadamente)

- Certificado de calibração

### Termos de garantia

O instrumento assim como todos os acessórios que o acompanham, foram cuidadosamente ajustados e inspecionados individualmente pelo nosso controle de qualidade, para maior segurança e garantia do seu perfeito funcionamento. Este aparelho é garantido contra possíveis defeitos de fabricação ou danos, que se verificar por uso correto do equipamento, no período de 12 meses a partir da data da compra.

A garantia não abrange fusíveis, pilhas, baterias e acessórios como pontas de prova, bolsa de transporte, sensores, etc.

### Excluem-se de garantia os seguintes casos:

- a) Uso incorreto, contrariando as instruções;
- b) Violação do aparelho por técnicos não autorizados;
- c) Queda e exposição a ambientes inadequados.

### Observações:

- Ao enviar o equipamento para assistência técnica e o mesmo possuir certificado de calibração, deve ser encaminhada uma carta junto com o equipamento, autorizando a abertura do mesmo pela assistência técnica da Instrutherm.
- Caso a empresa possua Inscrição Estadual, esta deve encaminhar uma nota fiscal de simples remessa do equipamento para fins de trânsito.
- No caso de pessoa física ou jurídica possuindo isenção de Inscrição Estadual, esta deve encaminhar uma carta discriminando sua isenção e informando que os equipamentos foram encaminhados a fins exclusivos de manutenção ou emissão de certificado de calibração.
- Ao solicitar qualquer informação técnica sobre este equipamento, tenha sempre em mãos o n.º da nota fiscal de venda da Instrutherm, código de barras e n.º de série do equipamento.

- **Todas as despesas de frete (dentro ou fora do período de garantia) e riscos correm por conta do comprador.**

*O manual pode sofrer alterações sem prévio aviso*

VENDAS, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E SUPORTE TÉCNICO

Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda,  
Rua Jorge de Freitas, 264 - Freguesia do Ó  
São Paulo - SP - CEP: 02911-030

Vendas: (11) 2144-2800 – Ass. Técnica: (11) 2144-2820

Suporte Técnico: (11) 2144-2802 - Fax: (11) 2144-2801

E - mail : [instrutherm@instrutherm.com.br](mailto:instrutherm@instrutherm.com.br) - Site: [www.instrutherm.com.br](http://www.instrutherm.com.br)

06/09/2017

# INSTRUTHERM®

Experiência, competência e inovação sempre a seu lado

## MANUAL DE INSTRUÇÕES



## COLORÍMETRO FOTOELÉTRICO DIGITAL MODELO C-200

### Descrição

O Colorímetro Fotoelétrico Digital modelo C-200 é um instrumento de fácil operação, precisão de medição, alto desempenho, ampla escala de comprimento de onda, alta estabilidade e durabilidade. É equipado com lâmpada e fotocélula de alta qualidade. Os filtros são feitos de cristal óptico e possuem 5 lentes de diferentes comprimentos de onda. Os valores de transmitância e absorção podem ser lidos diretamente no display.

### Especificações

Detector: Fotocélula de silício  
Filtro: Vidro, de 420nm, 470nm, 530nm, 620nm e 660nm  
Tubo de teste: 10mm de diâmetro interno  
Fonte de luz: Lâmpada de tungstênio de 6V e 500mA  
Escala: Transmitância: T% 0 ~ 100 em 100 divisões  
Absorção: LogT 0 ~ 2.0  
Precisão:  $\leq 3\%$   
Temperatura de Operação: 10 a 35°C  
Alimentação: AC 220V 20VA  
Dimensões: 20 x 28 x 16cm  
Peso: 2,5Kg

### Operação

1. Coloque o interruptor de alimentação na posição I, para ligar o aparelho e aguarde aproximadamente 10 minutos para que o instrumento se estabilize.
2. Insira o filtro no compartimento de filtros. Coloque um tubo de teste com no mínimo 1ml de água destilada no compartimento de tubos.
3. Através dos botões COARSE e FINE ajuste a leitura para 100%.
4. Retire o tubo de teste com a água destilada e coloque um tubo de teste com no mínimo 1ml da solução de amostra no suporte de tubos.
5. Observe a leitura no display, selecionando a unidade através do botão T/ABS. Refira-se à seção "Teste Clínico".
6. Após a medição, limpe o tubo de teste com água destilada e coloque o interruptor de alimentação na posição O para desligar o aparelho.

**Nota:** Para testar mais amostras, repita os passos 4 e 5. Depois de 30 minutos de operação, repita os passos 2 e 3.

1

Tubos	1	2	3	4	5
Solução padrão diluído	0	2,5	5,0	7,5	10ml
Solução de hidróxido de sódio 0,5N	10	7,5	5,0	2,5	0ml
Concentração	0	25	50	75	100%

### 23. Teste de Turbidez Timol

Reagente: Solução tampão de timol

1. Separar 1200ml de água em um frasco, aqueça por 10 minutos para remover o CO<sub>2</sub>.
2. Separe 1000ml da água aquecida em outro frasco de 1 litro.
3. Dissolva 6g de timol C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O e misture.
4. Adicione 3,09g de ácido dietilbarbitúrico 5,5 C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e 1,69g de sódio 5.5 dietilbarbiturado e misture.
5. Quando a mistura atingir a temperatura ambiente, adicione 1g de cristais de timol e agite com força até que a solução se torne transparente.
6. Mantenha a solução a uma temperatura de 20°C  $\pm$  1°C, e então misture e filtre a solução. Mantenha-a em um filtro.

Nota: A solução deve estar a 1H. 7.55, ajuste cuidadosamente através do NaOH ou HCl conforme o necessário.

Procedimento:

1. Coloque 5ml da solução tampão de timol em um tubo de teste.
  2. Coloque 6ml da solução tampão de timol e 0,1ml de soro em um outro tubo.
  3. Aguarde 30 minutos.
  4. Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
  5. Obtenha o resultado da curva padrão.
  6. Comprimento de onda 660nm, filtro 660nm. Valor normal: 0 – 5unid.
- Curva padrão:
1. Solução padrão: Dilua 2,35g de cloreto de bário BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O com ácido sulfúrico 0,2N até completar 100ml.
  2. Dilua 3ml da solução padrão em ácido sulfúrico 0,2N até completar 100ml.

Tubos de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	2,5	5,0	7,5	10ml
Ácido sulfúrico 0,2N	10	7,5	5,0	2,5	0ml
Concentração	0	5,55	11,11	16,65	22,2unid.

26

- Adicione 5ml de solução de hidróxido de sódio 10% e dilua-os em água até completar 1000ml.
  - Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
  - Obtenha o resultado da curva padrão.
  - Comprimento de onda: 545nm, filtro: 530 ou 540nm.
- Nota: Cada coleta de urina mg/l = P.S.P.% x 0,06  
 Valor normal: 15 minutos: 25 – 30% (em caso de injeção intravenosa)  
 1 hora: 45 – 60% (Injeção venosa)  
 2 horas: 60 – 70%  
 70 horas: 40 – 69% (em caso de injeção muscular)  
 2 horas e 10 minutos: 60 – 75%

Curva padrão:

Tubos	1	2	3	4	5
Solução padrão (1ml – 0,006mg P.S.P.)	0	2,5	5	7,5	10ml
Água	10	7,5	5	2,5	0ml
Concentração	0	25	50	75	100%

## 22. Teste de Bromsulfaleína

Reagente: 0,9% de solução de cloreto de sódio  
 10% de solução de hidróxido de sódio  
 5% de solução de ácido hidrocloreto

Procedimento:

- Coloque 4ml de solução de cloreto de sódio 0,9%, adicione 0,5ml de soro e uma gota de solução de ácido hidrocloreto 5% e misture.
- Coloque 4ml de solução de cloreto de sódio 0,9%, adicione 0,5ml de soro e uma gota de solução de hidróxido de sódio 10% e misture.
- Dilua ambos em solução de cloreto de sódio 0,9% até completar 10ml.
- Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
- Obtenha o resultado da curva padrão.
- Comprimento de onda: 575nm. Filtro 570 ou 530nm.  
 Valores normais: 0 - 4% em caso 5mg/kg pesar apenas 45 minutos após a injeção.

Nota: Injete 5mg de bromsulfaleína para cada 1Kg na veia.

Curva padrão: 1ml de solução padrão (1ml = 10mg B.P.S.) com 0,05N de solução de hidróxido de sódio até completar 100ml.

25

## Manutenção

- O instrumento deve ser mantido em lugar seco e limpo, de preferência em local hermeticamente fechado. Exposição direta à luz do sol e choques intensos devem ser evitados.
- Os tubos de teste devem ser mantidos limpos. Recomendamos a limpeza após cada uso com água destilada e recomenda-se mantê-los cheios de água destilada. O tubo de teste deve ser limpo com agente de limpeza especial algumas vezes por semana.
- A lâmpada deve ser substituída quando estiver danificada ou quando não for possível ajustar a leitura para 100% ao medir água destilada. Para tanto, siga os passos abaixo:
  - Retire a pequena tampa na parte inferior do instrumento, solte os parafusos de fixação da lâmpada, retire a lâmpada do soquete e substitua caso necessário.
  - A lâmpada deve ser colocada na posição correta após substituída. Caso não esteja, ajuste-a de acordo com o seguinte procedimento: 3.2.1. Coloque água destilada no tubo de teste, insira-o no compartimento do tubo de teste e coloque o botão T / ABS na posição T. Ajuste a leitura para 50% através dos botões COURSE e FINE.
  - Mova um pouco a lâmpada para atingir a leitura máxima. Agora a lâmpada está na posição correta.

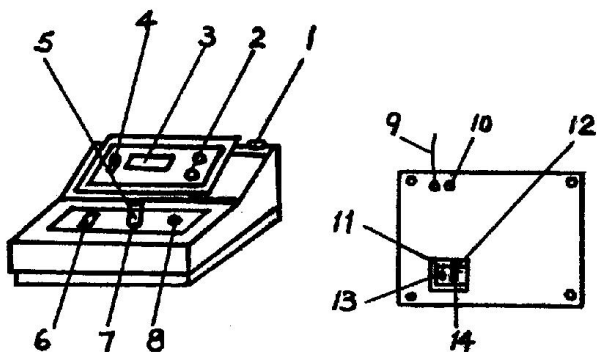
## Solução de Possíveis Problemas

Problema	Razão	Reparo
A lâmpada não acende	A lâmpada está danificada. O fusível está queimado. Problema no cabo de alimentação ou na tomada.	Troque a lâmpada. Troque o fusível. Verifique se o cabo está bem conectado à tomada ou se está rompido e se a tomada está em boas condições.
A leitura não está correta	Problema na fonte de luz. O tubo de teste não está limpo A fotocélula está envelhecida	Ajuste a posição da lâmpada ou substitua-a. Limpe o tubo de teste.

2

## Descrição do Painel

- Interruptor de alimentação
- Botões de ajuste COARSE e FINE
- Mostrador da leitura (display de LED)
- Botão de seleção T / ABS
- Tubo de teste
- Compartimento do filtro
- Compartimento do tubo de teste
- Janela de monitoração da lâmpada
- Cabo de alimentação
- Compartimento do fusível
- Tampa do compartimento da lâmpada
- Parafusos de fixação da lâmpada
- Parafuso de ajuste da lâmpada
- Soquete da lâmpada



3

- Após isto, centrifugue por 10 minutos a 3,000rpm.
- Meça 3,0ml da solução limpa em tubo de amostra e 3,0ml de solução de ácido acético glacial em outro.
- Coloque 2,0ml de ácido sulfúrico em ambos os tubos.
- Aguarde 30 minutos, então coloque o tubo de teste no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T. Obtenha o resultado da curva padrão.
- Comprimento de onda: 560nm, Filtro: 570 ou 530nm.

Nota:

- Caso os valores obtidos forem superiores a 400mg/dl, meça 0,05ml de soro ao invés de 0,1ml, repita o mesmo procedimento e anote o resultado duas vezes.
- O valor normal para homem é de 130 – 220mg/dl, e para mulher é de 150 – 240mg/dl.

Curva padrão:

- Pegue 5 tubos de teste e misture.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	0,1	0,2	0,3	0,4ml
Ácido acético glacial	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Água	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Cloreto férrico diluído	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7ml

Solução padrão: Complete 100ml com 100mg de reagente padrão de Colesterol e ácido acético glacial.

- Coloque o tubo nº 1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T. Anote o resultado no gráfico.

## 21. Teste de Fenosulfonftaleína

Reagente: Fenosulfonftaleína (6mg/ml)  
 10% de solução de hidróxido de sódio

Procedimento:

- A bexiga do paciente deverá estar totalmente vazia antes do teste.
- O paciente deverá beber 600ml de água e após 30 minutos deve-se injetar 1ml de fenosulfonftaleína na veia.
- Feito isto, o paciente deve urinar a cada 15, 30, 60 minutos e 2 horas.
- Colete 1000ml da urina em cilindros graduados separadamente.

24

Cálculo:

Lembrete bilirrubina de reação direta-----valor (a)  
Bilirrubina de reação direta total-----valor (b)  
Lentidão de reação direta de bilirrubina-----valor (B) (a)  
Bilirrubina total-----valor (c)  
Bilirrubina indireta-----valor (c) (b)

Nota: Quando se obtiver valores acima de 10mg%, adicione 0,5 mL em vez de 1mL de soro, repita o mesmo procedimento de teste. Então verifique o resultado da curva padrão duas vezes.

Curva padrão:

1. Solução padrão (Dilua 10mg de reagente bilirrubina C<sub>33</sub> H<sub>36</sub> O<sub>6</sub> N com clorofórmio).
2. Separe 1ml da substância acima e misture com 9ml de álcool metílico.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	1	2	3	4ml
Álcool metílico	9	8	7	6	5ml
Reagente Diazo	1	1	1	1	1mg
Concentração	0	2,5	5,0	7,5	10,0mg/dl

Concentração:

Misture bem, e aguarde 30 minutos.

4. Coloque o tubo n°1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
5. Obtenha o resultado e escreva no gráfico.

### 20. Soro Colesterol (Método Zak e Henly)

Reagente: Ácido acético glacial para colesterol.  
Reagente de Kiliani (Dissolva 8g de cloreto de ferro FeCl<sub>3</sub> H<sub>2</sub>O em ácido acético glacial até completar 100ml). Ácido sulfúrico para colesterol.

Nota: Dilua 1m de reagente de Kilian em ácido acético glacial para colesterol até completar 100ml.

Procedimento:

1. Coloque 0,1ml de soro e 8ml de reagente de Kilian em um tubo de centrífuga, aguarde 10 minutos.

23

### Testes Clínicos

1. Hemoglobina (método Cianeto).
2. Índice de Icterus (método Meulengracht).
3. Nitrogênio Uréia em sangue (método por Diacetil Monoxime).
4. Nitrogênio não protéico (método Kjeldahl-Nessler).
5. Determinação da Creatinina e Creatina (método Jaffe).
6. Fósforo (inorgânico) em soro (método Fisk Subbra Row).
7. Relação de albumina para globulina (método Fosfato).
8. Dextrose de urina (método Carbonato de Sódio).
9. Proteína em urina.
10. Urobilinogênio (método Aldeído).
11. Dextrose em Fluido Cérebro-espinhal (método Somogyi).
12. Dextrose em Fluido Cérebro-espinhal (método Gardner).
13. Proteína em Fluido Cérebro-espinhal (método de Biuret).
14. Proteína em Fluido Cérebro-espinhal (método Bossak e Harris).
15. Teste de Sulfato de Zinco de Kunker.
16. Dextrose em sangue (método Somogyi).
17. Dextrose em sangue (método O-Toluidina).
18. Proteína total.
19. Bilirrubina em soro.
20. Soro Colesterol (método Zak e Henly).
21. Teste de Fenosulfonftaleína.
22. Teste de Bromsulfaleína.
23. Teste de Turbidez Timol.

### Advertência importante.

Os 19 gráficos seguintes são provenientes de resultados padrão de testes clínicos feitos com o Colorímetro Fotoelétrico modelo C-200. Contudo, existem muitas variações que estão fora do controle do fabricante. Antes de preparar a curva padrão, deve-se verificar os dados do gráfico com soluções padrão de concentração conhecida.

### Como fazer a linha padrão no papel

1. Prepare três tubos de teste B, 1 e 2.  
O tubo B deve conter 5mL de reagente hemoglobina, o tubo 1 deve conter 2,5mL de reagente hemoglobina e 2,5mL de solução padrão acuglobina e o tubo 2 deve conter 5mL de solução padrão acuglobina.

4

2. Coloque o filtro de 530mu no compartimento do instrumento.
3. Coloque o tubo de teste B no compartimento do instrumento e ajuste a leitura para 100% na escala de transmitância (T).
4. Coloque o tubo de teste 1 no compartimento do instrumento e observe a leitura. Coloque uma entrada do resultado no papel semigráfico.  
Exemplo: 69% (a leitura do instrumento apresenta 7,55 g/dl).
5. Coloque o tubo de teste 2 no compartimento do instrumento e observe a leitura. Coloque uma entrada do resultado como acima.  
Exemplo: 48% (a leitura do instrumento apresenta 15,1 g/dl).
6. Desenhe uma linha unindo os pontos. Será uma linha reta, portanto você pode obter a concentração HB g/dl, da amostra de sangue através destas linhas padrão.

### Seja cuidadoso na análise colorimétrica:

1. Tubos de vidro combinados fotometricamente devem ser inseridos na mesma posição como indicado pela seta e marcação no recipiente.
2. A técnica individual do usuário (leitura de meniscos, uso de pipeta e tempo de controle).
3. O reagente pode variar de lote a lote. Utilize um de bom refinamento.
4. A amostra volumétrica pode variar dependendo da quantidade de uso, processo de fabricação, etc.
5. A medição deve seguir exatamente o mesmo tratamento.

### Preparação para curva padrão.

Há dois tipos de papel gráfico para se fazer a curva padrão. Um é o papel semi-log e o outro é um papel seccionado comum. O papel semi-log é preenchido com uma escala de porcentagem e o papel seccionado é preenchido com o valor de medição da escala do medidor, -log.

### Como fazer a linha padrão no papel.

Prepare três tubos de teste, B, 1 e 2. O tubo B deve conter 5mL de reagente hemoglobina, o tubo 1 deve conter 2,5mL de reagente hemoglobina e 2,5mL de solução padrão acuglobina e o tubo 2 deve conter 5mL de solução padrão acuglobina. Coloque o filtro 530mu no compartimento do instrumento.

- a. Coloque o tubo de teste B no compartimento do instrumento e ajuste a leitura para 100% de transmitância (T).
- b. Coloque o tubo de teste 1 no compartimento do instrumento e observe a leitura. Coloque uma entrada do resultado no papel semi-gráfico. Por exemplo,.... 69% (ponto de indicação do instrumento 7.55g/dl).

5

Cálculo: Razão A/G

Proteína Total – Albumina em plasma = Globulina

$$\frac{\text{Albumina (g/dl)}}{\text{Globulina (g/dl)}} = \text{Razão A/G}$$

### 19. Bilirrubina em soro.

Reagente: 1,5% de solução de ácido hidroclórico (Dilua 15ml de ácido hidroclórico com água até completar 1000ml). Reagente Diazo (Dilua 0,6ml de solução de nitrato de sódio com solução de ácido sulfanílico até completar 20ml). Solução de ácido sulfanílico (Dissolva 1g de ácido sulfanílico e 15ml de ácido hidroclórico, dilua com água até completar 1000ml).  
\* Solução de nitrato de sódio 0,5% (dilua 0,5g da solução de nitrato de sódio e complete com água até 100ml). Álcool metílico.

Procedimento:

1. Dissolva 1ml de soro com água até completar 10ml em 25ml do tubo de teste graduado. (Soro diluído)
2. Prepare 4 tubos de teste.

Tubo de teste	A	B	C	D
Água	2,5	2,5		ml
Ácido hidroclórico de 1,5%	0,5		0,5	ml
Reagente Diazo		0,5		0,5ml
Soro diluído	1	1	1	1ml
Álcool metílico			2,5	2,5ml

3. Coloque o tubo A no compartimento do instrumento, e ajuste a 100%T.
4. Remova-o, e após 1 minuto misture com o tubo B e coloque no compartimento do instrumento, o obtenha o resultado da curva padrão (bilirrubina mg%). Nomeie como A.
5. Após 15 minutos, meça o tubo B e obtenha o resultado, nomeie como B.
6. Após 30 minutos misture com o tubo D, obtenha o resultado da curva padrão.
7. Comprimento de onda: 535nm, filtro: 540nm. Valor normal 0,2 – 0,8mg/dl de bilirrubina total.

22

- Mantenha a mistura em temperatura ambiente por 30min.
  - Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
  - Obtenha o resultado da curva padrão.
  - Comprimento de onda: 530nm, filtro: 530 ou 540nm.
- Curva padrão:
- Solução padrão: Dilua 1ml de proteína conhecida com solução de cloreto de sódio 0,85% até completar 12ml.
  - Pegue 5 tubos de teste:

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão	0	0,5	1	1,5	2,0
Água destilada	2	1,5	1	0,05	0
Concentração	2x o valor da proteína				

- O próximo passo é seguir o procedimento de "3-4".
- Coloque o tubo de teste nº1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
- Obtenha o resultado e insira os valores no gráfico.

#### b. Albumina em plasma (ou soro)

Reagente: Biureto (mesmo que o A)

23% de solução de ácido sulfúrico (coloque 50ml de 37°C de água e 23g de ácido sulfúrico de sódio anidro e misture, então adicione água até completar 100ml. Nota: Mantenha em incubadora em 37°C) Éter etílico.

Procedimento:

- Dissolva 7,5ml de 23% da solução de ácido sulfúrico em um tubo de centrifuga, adicione 0,5ml de plasma e misture.
- Adicione 4ml de Éter etílico, agite a mistura por 30 segundos após esse procedimentos deixe em espere na estação por 15 minutos em uma rotação 2000rpm.
- Separe 2ml da camada de sulfato no tubo de teste (camada inferior no tubo da centrifuga).
- Separe 2ml da solução de ácido sulfúrico de sódio 23%.
- Adicione 8ml do reagente de biureto em ambos tubos.
- Mantenha a mistura em temperatura ambiente por 30 segundos.
- Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
- Obtenha o resultado da curva padrão.
- Comprimento de onda: 530nm, filtro: 530 ou 540nm.

21

- Coloque o tubo de teste 2 no compartimento do instrumento, e observe a leitura. Coloque uma entrada do resultado no papel semi-gráfico.  
Exemplo, .....48% (ponto de indicação do instrumento: 15.1g/dl)
- Faça uma linha reta entre os pontos, desta maneira, pode-se obter o valor de concentração, o HB g/dl de uma amostra de sangue desconhecido por estas curvas padrões.

Nota: A solução padrão de acuglobina geralmente possui uma concentração de cerca de 60,0 – 60,9 mg/dl e deve ser multiplicada por 251. Por exemplo, uma certa concentração... 60,2mg/dl = 15.1 g/dl (60,2 x 251 = 15.1), então, se este padrão de acuglobina foi utilizado, a concentração do tubo de teste 1 é 7.55g/dl, e do número 2 é 15,1g/dl. A concentração de acuglobina é indicada em cada ampola, para obter o valor correto, deve-se realizar os testes pelo menos 3 vezes.

### 1. Hemoglobina (Método Cyanmet)

Reagente de reação hemoglobina (método zijista e van kampem). Dissolva 200mg de ferrocianeto de potássio K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>, 50 mg de cianeto de potássio Kce, 140 mg de monobásico de fosfato de potássio KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e adicione 0.5mL de sterox SE (reagente ativo de superfície) em 1000mL de água destilada

#### Procedimento

- Meça dois tubos de teste com 5.0mL de reagente de reação de hemoglobina. Um puro e o outro com 0.02mL de amostra de sangue.
  - Depois de 5 minutos, coloque o tubo no compartimento do instrumento começando em 100%T.
  - Obtenha o resultado da curva padrão de hemoglobina.
  - Comprimento de onda 540, filtro 530 ou 540 mm
- Observação: Os valores normais geralmente obtidos por este método são de 14.0 – 18.0 g/dl para homem adultos e 11.5 – 16.0 g/dl para mulheres adultas.

#### Método de calibração:

- Pegue três tubos de teste a amostra padrão misturada.
- Selecione o tubo de teste 1 e ajuste a 100%.
- Obtenha o resultado do instrumento e coloque no gráfico.

6

Tubo de teste	1	2	3
Solução padrão	0	2,5ml	5ml
Reagente de reação de hemoglobina	5ml		0
Concentração	0	0,5	*

\* Padrão de hemoglobina conhecido como g/dl.

### 2. Índice de Icterus (Método Meulengracht).

Reagente: 0,85% solução de cloreto de sódio

Procedimento:

- Meça 5ml de água destilada, 4,5 de 0,85 de solução de cloreto de sódio 0,85 adicionando 0,5 ml plasma no espaço vazio.
- Coloque o tubo de teste vazio no compartimento do instrumento e ajuste-o em 100%T. Obtenha o resultado do índice de icterus de curva padrão.
- Filtro de 420 a 430 mm.

Curva padrão: 20mg de potássio dicrômico K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> com 100mL de água destilada na solução padrão.

1.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão	0	2,5	5,0	7,5	10ml
Água destilada	10	7,5	5,0	2,5	0ml
Concentração	0	5	10	15	20unid.

- Coloque o tubo Nº 1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%t.
- Obtenha o resultado do instrumento e escreva-o no gráfico. O valor normal é de 4 – 6 unidades de Meukengracht.

### 3. Nitrogênio Uréia (Método por Diacetil Monoxime).

Reagente: 10% de Ácido Tricloroacético

1% Diacetilmonóxido (misturar 100ml da solução com diacetilmonóxido 1g com 5% de ácido acético glacial)  
2% Antipirina (Dissolver 1g de antipirina em 50ml de água destilada).

7

Reagente: O-toluidina (dissolva 1,5g de Tio-uréia com 920ml de ácido acético glacial CH<sub>3</sub>COOH, adicione 80ml de Orto-toluidina. Adicione 40ml de solução padrão de ácido bórico completando 960ml, então mantenha a mistura em uma garrafa de cor escura). Solução padrão de ácido bórico (Dissolva 6g de ácido bórico em 100ml de água destilada e aguarde 24h, filtre parte da substância para uso).

Procedimento:

- Junte 0,05ml de soro e 5ml de reagente de reação O-toluidina em um tubo.
- Aqueça a mistura por cerca de 8 minutos em banho, e resfrie em água por 3 minutos.
- Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste 100%T.
- Obtenha o resultado da curva padrão.
- Comprimento de onda: 635nm, filtro 620 ou 660nm.

Curva padrão:

- Pegue cinco tubos de teste

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0ml
Água destilada	9,5	9,0	8,0	7,0	6,0ml
Concentração	50	100	200	300	400mg

- Efetue os passo de "2 – 5" com todos os cinco tubos, obtenha o resultado e escreva-o no gráfico.

### 18. Proteína Total (Biureto)

a. Proteína em plasma

Reagente: Biureto (Dissolva 1,5g de sulfato cúprico CuSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O e 6g de tartarato de sódio de potássio NaKC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 4H<sub>2</sub>O em 500ml de água. Adicione 1g de iodeto de potássio, dilua com água até completar 1000ml).

Procedimento:

- Junte 0,5ml de plasma (ou soro) com 0,5ml de cloreto de sódio de 0,85% e misture.
- Pegue 2 tubos de teste, um com 2ml de plasma (ou soro) e outro com 2ml de cloreto de sódio de 0,85%.
- Adicione 8ml de reagente de biureto em ambos os tubos e efetue a mistura

20

Adicione 21ml de ácido sulfúrico e misture. Adicione 3g de arseniato de sódio  $\text{NaHASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  diluído em 500ml de água. Mantenha a mistura a 37°C por 2 ou 3 dias e filtre. Armazene-a em garrafa marrom em 37°C).

Procedimento:

1. Pegue 7,5ml de água, 0,5ml de sangue, 1ml de hidróxido de bário 0,3N e 1ml de sulfato de zinco 5% em um tubo de teste, agite bem a mistura e centrifugue por 5 minutos a 1800rpm.
2. Pegue 2 tubos de açúcar folino, adicione 2ml da mistura filtrada em um, e 2ml de água em outro tubo.
3. Adicione 2ml de reagente em ambos tubos.
4. Ferva ambos os tubos por cerca de 10 minutos em banho, e aguarde 3 minutos para esfriar.
5. Adicione 2ml de reagente molíbdico arsênio e agite, aguarde por 2 minutos.
6. Dilua com água até completar 15ml.
7. Transfira para o tubo de teste, coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
8. Obtenha o resultado da curva padrão.
9. Comprimento de onda 500nm, filtro: 500 ou 470nm

Curva padrão:

1. Dilua 10ml de solução 10ml (1ml = 10mg) com ácido benzóico 0,25%  $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$  para completar 100ml.
2. Pegue 5 tubos de teste:

Tubos	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	2,5	5,0	7,5	10ml
Água	0	97,5	95	0,125	90ml
Concentração	0	50	100	150	200mg/dl

3. O próximo passo é seguir o procedimento de "2-6".
4. Transfira para um tubo de teste, coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
5. Comprimento de onda: 635nm, filtro: 620 ou 660nm.

#### 17. Dextrose em Sangue (Método O-Toluidina).

19

Média oxidante de nitrogênio uréia (misture 60% de ácido perclórico e 100ml de ácido sulfúrico).

Procedimento:

1. Em 2,5ml de água, adicione 0,2ml de plasma (ou soro) em um tubo de centrifuga e misture.
2. Adicione 2,3ml de ácido tricloroacético 10% e centrifugue por 5 minutos a 3,000rpm.
3. Pegue 0,5ml deste líquido filtrado em um tubo de teste como amostra, em outro tubo de teste com 0,5ml de água no espaço em branco.
4. Adicione 1,5ml de diacetilmonóxido 1%, 1,5ml de antipirina 2% e 3ml de média oxidante em cada tubo de teste e misture.
5. Ferva esta mistura por exatamente 15 minutos em um tubo de banho e a resfrie em água por 3 minutos.
6. Dilua a mistura até a marca de 10ml com água destilada e realize a mistura por inversão.
7. Coloque o tubo no compartimento em branco (vazio) do instrumento e ajuste para 100%T.
8. Obtenha o resultado da curva padrão do nitrogênio uréia.
9. Comprimento de curva: 460nm, Filtro: 470nm.

Curva padrão

1. Coloque 0ml de solução padrão (3g/dl) em 125 ml de água. (solução padrão diluída)
2. Pegue cinco tubos e misture a solução padrão diluída com água

Tubos	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	0,125	0,25	0,375	0,5ml
Água	0,5	0,375	0,25	0,125	0ml
Concentração	0	15	30	45	60mg/dl

3. Próximo procedimento é seguir os passos de 4 – 6.
4. Coloque o tubo 1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
5. Obtenha o resultado, e escreva no gráfico.

#### 4. Nitrogênio não Protéico (método Kjeldahl-Nessler).

Reagente: 5% de ácido tricloroacético

8

Agente oxidante A (Misture 100ml de ácido sulfúrico e 100ml de água) 30% de peróxido de hidrogênio  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Reagente de Nessler (coloque óxido de mercúrio,  $\text{HgO}$  vermelho 16,2g e iodeto de potássio 51g em um frasco 1000g e misture o hidróxido de sódio e complete até 1000ml com água. Mantenha a mistura em temperatura ambiente por 2 -3 dias).

Procedimento:

1. Coloque 0,5ml de plasma (ou soro) em um tubo de centrifuga adicione 4,5ml de ácido tricloroacético 5%, misture por 5 -10, centrifugue por mais 5 minutos a 2000rpm.
2. Pegue dois tubos de teste com 35ml de oxidante kjeldahl e adicione 2,5ml de amostra do líquido filtrado, adicione 2,5 de ácido tricloroacético 5% em um outro tubo no espaço vazio.
3. Coloque bolas ou pedaços de vidro para evitar perigo, e adicione 1ml do agente oxidante A.
4. Aqueça em fogo brando, e espere evaporar a água dos tubos. Depois de 15 minutos fervidos, a água está em ebulição, então coloque um funil de vidro no tubo de oxidante Kjeldahl.
5. Esta solução se tornará amarela entre 20 a 30 segundos minutos. Mantenha-a em temperatura ambiente por 2 – 3 minutos.
6. Adicione 0,5ml de peróxido de hidrogênio 3% e leve-o a fogo brando durante 5-10 minutos. Mantenha-o em temperatura ambiente por 5 - 10 minutos, dilua com água até a graduação de 35ml e misture.
7. Coloque 7ml da mistura em ambos tubos e adicione 3ml do reagente de Nessler e misture. Mantenha a mistura em temperatura ambiente por 5 minutos.
8. Coloque o tubo de teste no instrumento e ajuste para 100%T.
9. Obtenha o resultado da curva padrão de nitrogênio não protéico.
10. O filtro de comprimento de onda é de 470nm, o valor normal é 20 - 25mg/dl N.

Curva padrão:

1. Dilua 100ml da mistura em 1ml da solução padrão (1ml = 10mg/N) com 5% de ácido tricloroacético.
2. Pegue 5 tubos de teste e misture.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	2,5	5,0	7,5	10ml
Ácido tricloroacético 5%	10	7,5	5,0	2,5	0ml
Concentração	0	2,5	5,0	7,5	100mg/dl

9

2. Mantenha a temperatura em 80°C, então coloque 1000ml de água quente em outro frasco.
3. Adicione 0,302g de ácido dietilbarbitúrico 5.5 ( $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3$ ), 0,190g de sódio de dietilbarbiturato 5.5 ( $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ ) e 2ml de sulfato de zinco 0,480g/dl ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e misture.
4. Resfrie a mistura em temperatura ambiente e acrescente água destilada até completar 1000ml.

Nota: Ajuste o pH para 7,6 tanto com o NaOH quanto com o HCl.

Procedimentos:

1. Misture 5ml da solução de sulfato de zinco com 0,1ml de soro.
2. Misture por 30 minutos.
3. Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste a 100%T
4. Obtenha o resultado da curva padrão.
5. Comprimento de onda: 660nm, Filtro 660nm, Valor normal: 4 -12 unidade de Kunkel.

Cálculo: Globulina gama g/dl = Unidade de Kunkel x 0,053 + 05

Curva padrão:

1. Solução padrão: Complete até 100ml com cloreto de bário 1,15g  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com ácido sulfúrico 0,2N.
2. Dilua 3ml de solução padrão com ácido sulfúrico 0,2N até completar 100ml.
- 3.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão (10mg/dl)	0	2,5	5,0	7,5	10,0ml
Cloreto de sódio 0,9g/dl	10	7,5	5,0	2,5	0ml
Concentração	0	5	10	15	20mg/dl

#### 16. Dextrose em Sangue (Método Somogyi).

Reagente: Solução de sulfato de zinco

Reagente de cobre Somogyi (Dissolva 24g de carbonato de sódio  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 12g de tartarato de sódio de potássio  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e 16g de anidrido de bicarbonato de sódio  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Após dissolver, adicione 4g de sulfato de cobre  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e complete até 1000ml com água destilada. Mantenha a mistura a 37°C por 2 ou 3 dias e filtre a mesma Armazene a solução em uma garrafa marrom e a 37°C). Reagente ácido molíbdico arsênio (25g de molíbdato de amônia dissolvido em 450ml de água,

18

Procedimento:

1. Pegue dois tubos de teste, em um tubo adicione 1 ml de água, e no outro, adicione 1ml de fluido cérebro-espinal.
2. Adicione 4ml de reagente biureto em cada tubo e misture.
3. Mantenha a mistura em temperatura ambiente por 30 minutos.
4. Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
5. Obtenha o resultado da curva padrão.
6. Comprimento de onda: 530nm, Filtro 530 ou 540nm, o valor normal é de 15 – 45mg/dl

Cálculo: Os valores obtidos da curva padrão de proteína total deve ser dividido por 24 = Valor de proteína no fluido cérebro-espinal.

#### 14. Proteína em Fluido Cérebro-espinal (método Bossak/Harris)

Reagente: 10g/dl de solução de ácido tricloroacético  
0,9g/dl de solução de cloreto de sódio

Procedimento:

1. Misture 5ml de fluido cérebro-espinal e 5ml de solução de ácido tricloroacético 10g/dl.
2. Aqueça durante 10 minutos a 37°C.
3. Então misture através de inversão, e em outro tubo 5ml de água pura.
4. Coloque no instrumento e ajuste em 100%T.
5. Obtenha o resultado da curva padrão.
6. Comprimento de onda: 420nm, filtro: 420 ou 430nm, o valor normal é de 15-45mg/dl.

Curva padrão:

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão (10mg/dl)	50	3,75	2,5	1,25	0ml
Cloreto de sódio 0,9g/dl	0	1,25	2,5	3,75	5ml
Concentração	0	15	30	45	60mg/dl

#### 15. Teste de Sulfato de Zinco de Kunker

Reagente: Solução tampão de sulfato de zinco

1. Coloque 1,200ml de água destilada em um frasco e aqueça por 10 minutos para remover o CO<sub>2</sub>.

17

3. Em 5 tubos de oxidante Kjeldahl, adicione 2,5ml da solução no tubo de teste.
4. O próximo procedimento é seguir os passos de "3 - 7".
5. Coloque 0ml/dl da solução no tubo de teste no instrumento e ajuste para 100%T.
6. Obtenha o resultado e escreva no gráfico.

#### 5. Determinação de Creatina (Método Jaffe)

Reagente: 0,04M de ácido pícrico (diluía 16g de ácido pícrico em 100ml de água e ferva a 80°C por 30 – 40 minutos = Solução padrão. Mantenha a mistura em temperatura ambiente (20° - 25°C), então meça 690ml da solução de ácido pícrico em um frasco e complete com água até 1000ml), 0,75N de hidróxido de sódio  
10% de tungstênio de sódio  
2/3N de ácido sulfúrico

Procedimento:

1. Coloque 1 ml de plasma (ou soro) em um tubo de centrifuga. Adicione 8ml de água e 0,5ml de 10% de tungstênio de sódio e misture.
2. Adicione 0,5ml de ácido sulfúrico então centrifugue por 10 minutos a 2,00rpm.
3. Meça exatamente 5ml de água destilada.
4. Coloque os em banho Maria a 25°C até que os tubos atinjam a temperatura do banho.
5. Adicione 2ml de ácido pícrico 0,04M e 2ml de hidróxido de sódio 0,75 e misture.
6. Mantenha a mistura na temperatura do banho por 15 minutos.
7. Coloque o tubo no instrumento e ajuste para 100%T.
8. Obtenha o resultado da curva padrão.
9. Comprimento de onda: 515nm, Filtro: 500 ou 530nm, os valores normais são de 0,8 – 1,2mg/dl para homens adultos, e de 0,6 – 0,9 para mulheres adultas.

Curva padrão:

1. Dilua 100ml de água destilada a 1ml da solução padrão (1ml = 1mg)
2. Pegue cinco tubos de teste e misture.

10

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	1,25	2,5	3,75	5ml
Água	5	3,75	2,5	1,25	0ml
Concentração	0	2,5	5,0	7,5	10,0mg/dl

3. o próximo procedimento é seguir os passos de 4 - 6
4. Coloque o tubo de teste 1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
5. Obtenha o resultado e escreva-o no gráfico.

#### 6. Fósforo (Inorgânico) em Soro (Método Fisk Subbra Row).

Reagente: 10g/dl de ácido tricloroacético  
Solução de molibbdênio (pegue 400ml de água e adicione 83ml de ácido sulfúrico, e misture. Adicione 25g de ácido molibbdênio de amônia (NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>MO<sub>7</sub>O<sub>24</sub>. 4H<sub>2</sub>O e dilua com água até 1000ml). Agente de redução (5g de 1-Amina, 2-Nafta, 4 Ácido de sulfito com 195ml de bissulfito (b) e adicione 5ml de 20g/dl de sulfito de sódio Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> com 100ml de água).

Procedimento:

1. Coloque 1ml de soro (ou plasma) em um tubo de centrifuga, adicione 15ml de tricloroacético 10% e misture.
2. Mantenha em temperatura ambiente por 5 minutos, e centrifugue por 5 minutos a 3,000rpm.
3. Pegue 5ml do líquido filtrado em um tubo de teste, e 5ml de tricloroacético 10% em um outro tubo.
4. Adicione em ambos tubos de teste 1ml de solução de molibbdênio e misture.
5. Então, adicione 0,5ml do agente de redução e 3,5ml de água.
6. Misture e mantenha a mistura em local escuro por 10 segundos.
7. Coloque o tubo no compartimento do instrumento de ajuste para 100%T.
8. Obtenha o resultado da curva padrão.
9. Comprimento de onda: 660nm, Filtro: 660nm

Curva padrão:

1. Dilua 1ml da solução padrão (1ml = 1mg) com 100ml de água destilada.

11

Procedimento:

1. Meça 7,5ml de água em um tubo, adicione 0,5ml de fluido cérebro-espinal, 1ml de hidróxido de bário 0,3N e 1ml de sulfato de zaino então misture e centrifugue por 5 minutos a 1,800rpm.
2. O próximo procedimento é seguir o procedimento 2 de "dextrose em sangue". O valor normal é de 50 – 80mg/dl.

#### 12. Dextrose em Fluido Cérebro-espinal (Método Gardner).

Reagente: 1g/dl solução de sódio picrate  
10% de carbonato de sódio

Procedimento:

1. Pegue 0,5ml de fluido espinal, e 0,5ml de água em cada tubo de teste.
2. Adicione 0,5ml de solução picrate 1g/dl e 0,5ml de carbonato de sódio 10g/dl em cada tubo.
3. Ferva a mistura por 10 minutos em um tubo de banho, após o procedimento resfriem o tubo em água fria.
4. Dilua com água até a graduação 5ml e misture.
5. Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste a 100%T.
6. Obtenha o resultado da curva padrão.
7. Comprimento de onda: 530nm, Filtro: 530 ou 540nm.

Curva padrão

1. Dilua 10ml de solução padrão de dextrose (1ml = 10mg) com água a 100ml.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão	0	2,5	5,0	7,5	10ml
Água	10	7,5	5,0	2,5	0ml
concentração	0	25	50	75	100unid.

2. Meça 0,5ml de cada solução diluída em outros 5 tubos.
3. o próximo procedimento é seguir o procedimento "2"
4. Coloque 0mg/dl no tubo de teste no instrumento e ajuste para 100%T.
5. Obtenha o resultado e o escreva no gráfico.

#### 13. Dextrose em Fluido Cérebro-espinal (Método Gardner).

Reagente: Biureto (Mesmo que a determinação de "Proteína em Plasma")

16

2. Meça 5ml de cada solução diluída em outros 5 tubos.
3. O próximo procedimento é seguir os passos de 4 - 6.
4. Misture novamente e coloque o tubo nº1 no compartimento do instrumento
5. Obtenha o resultado, então o escreva no gráfico.

### 10. Urobilinogênio (Método Aldeído).

Reagente: Ehrlich (150ml de ácido hidrocloreico e 100ml de água então dissolva 0,7g de R-dimetilaminobenzaldeído. Mantenha a mistura em uma garrafa marrom). Solução saturada de acetato de sódio (dissolva 130 de acetato de sódio  $C_2H_3COONa$ , 3+1<sub>2</sub>d em 100ml de água a 37°C).

Procedimento:

1. Meça 2,5ml de urina em um tubo de teste, adicione 2,5ml de reagente Ehrlich e misture, então adicione 5ml de acetato de sódio saturado e mistura.
2. Meça 2,5ml de urina em um outro tubo de teste, adicione 2,5ml da solução de acetato de sódio saturado e misture, adicione 2,5ml de reagente Ehrlich.
3. Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
4. Obtenha o resultado da curva padrão.
5. Comprimento de onda 565nm, Filtro: 570 ou 530.

Curva padrão:

1. Dilua 20,4ml da solução padrão em ácido acético 0,5%

Tubos	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	0	2,5	5,0	7,5	10,0ml
Água	10,0	7,5	5,0	2,5	0ml
Concentração	0	0,15	0,3	0,45	0,6mg/dl

Cálculo:

$$\text{Urobilinogênio} = \frac{\text{Volume de urina de 24h}}{100} \times 4 \text{ (múltiplo diluído) mg/dia} \times \text{Urobilinogênio em mg/dl}$$

### 11. Dextrose em Fluido Cérebro-espinhal (Método Somogyi)

Reagente: Mesmo que em "Dextrose em sangue"  
**15**

2. Pegue cinco tubos de teste e misture.

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída	1	2	3	4	5ml
Tricloroacético 10%	7	6	5	4	3ml
Concentração	2	4	6	8	10mg/dl

3. Coloque 5ml da solução em outros 5 tubos.
4. O próximo procedimento é seguir os passos de 4 - 6.
5. Coloque o tubo de teste 1 no compartimento do instrumento e ajuste 100%T.
6. Obtenha o resultado e escreva-o no gráfico.

### 7. Relação de albumina para globulina (método Fosfato)

Reagente: Solução de fosfato 3,3M, PH6,5, gravidade específica 1,335 (adicione 2,268g de monobásico de fosfato de potássio e 335g de hidróxido de sódio NaOH em cerca de 3000ml de água destilada. Mantenha o tubo em temperatura ambiente em gravidade específica de 1,335 para diluir em água).

Solução de fosfato nº1

(Complete até 1000ml com água e 925ml de solução de fosfato).

Solução de fosfato nº2

(Complete até 1000ml com água e 749ml de solução de fosfato).

Procedimento:

1. Misture 1ml de soro e 1,5ml de água em um tubo.
2. Adicione 7,5ml de solução de fosfato e misture.
3. Pegue 3 tubos de teste, Número 1: 10ml de água  
Número 2: 10ml de D.P.S. número 1  
Número 3: 10ml de D.P.S. número 2
4. Adicione 1 ml de solução de fosfato em cada tubo.
5. Mantenha-o em temperatura ambiente por 10 minutos.
6. Coloque o tubo de teste número 1 no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
7. Obtenha o resultado dos cálculos.
8. Comprimento de onda: 650nm, Filtro 660nm.

**12**

Calculo:

$$\text{Relação de albumina} = \frac{\text{Absorbância do tubo nº2} - \text{Absorbância do tubo nº1}}{\text{Absorbância do tubo nº3}}$$

### 8. Dextrose de Urina (Método Carbonato de Sódio).

Reagente: 10% de carbonato de sódio

Procedimento:

1. Misture a urina por 24h, filtre parte dela.
2. Pegue dois tubos de graduação de 20ml, coloque 5ml de carbonato de sódio 10% em um tubo de amostra, e no outro 5ml de carbonato de sódio em um tubo, em outro tubo acrescente 5ml de água.
3. Adicione 1ml do líquido filtrado em cada tubo.
4. Ferva ambos os tubos por aproximadamente 8 minutos em um tubo de banho.
5. Resfrie em água gelada por 3 minutos, dilua em água até completar 20ml e misture.
6. Coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T.
7. Obtenha o resultado da curva padrão.
8. Comprimento de onda 500nm, Filtro 500 ou 530nm. Valores normais 50-200mg/day.

Calculo:

$$\text{Volume em mg de dextrose} = \frac{\text{Volume de urina de 24h}}{100} \times \text{Dextrose de urina em mg/dl}$$

1. Pegue 5 tubos de teste e misture

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão de dextrose (1ml = 10mg)	0	1	2	3	4ml
Água	5	4	3	2	1ml
Concentração	0	1	2	3	4g/

2. Adicione 5ml de carbonato de sódio 10% em 5 tubos, siga o procedimento de 4 - 5.
3. Coloque o tubo de teste 1 no compartimento do instrumento e ajuste 100%T.
4. Obtenha o resultado e escreva-o no gráfico.

**13**

### 9. Proteína em urina

Reagente: Ácido acético, glacial

2% de goma arábica (Dissolva 2g de goma arábica em água até completar 100ml). Reagente Exton (Coloque 50g de ácido sulfosalicílico  $HO_3SC_6H_3(OH)COOH$ .  $2H_2O$  e 10g sulfato de sódio extra puro  $NaSO_4 \cdot 10H_2O$  em um frasco. Adicione 25ml de 0,04% Bromofenol azul  $C_6H_4SO_2OC(C_6H_3OBr)_2$ , adicione água até completar 1000ml).

Procedimento:

1. Misture urina de 24h filtre parte dela. Realize o teste com redutor de tornassol, adicione um pouco de ácido acético em caso de alcalinidade.
2. Meça 5ml do líquido filtrado em um tubo, adicione 5ml de água e misture.
3. Meça 5ml de água em um tubo de teste e em um outro tubo de teste adicione 1ml de urina diluída e 4ml de água.
4. Adicione 1ml de 2% goma arábica em cada tubo.
5. Adicione 5ml de reagente Exton e misture.
6. Mantenha a mistura a uma temperatura ambiente por 10 minutos.
7. Misture novamente e coloque o tubo no compartimento do instrumento e ajuste para 100%T
8. Obtenha o resultado da curva padrão.
9. Comprimento de onda: 660nm, Filtro: 660nm.

Cálculo:

$$\text{Urina (mg/dia)} = \frac{\text{Volume de urina de 24h}}{100} \times \text{Proteína de urina em mg/dl}$$

Nota: Se o valor obtido for superior a 500mg/dl, utilize "0,5ml de filtro e 4,5ml de água" ao invés de "1mg de filtro e 4ml de água", e efetue o teste por 2 vezes para maior exatidão.

Curva padrão:

1. Pegue 5 tubos e misture

Tubo de teste	1	2	3	4	5
Solução padrão diluída (1ml = 1mg proteína)	0	1	2	3	4ml
Água	8	7	6	5	4ml
Concentração	0	215	250	375	500mg/dl

**14**