

## POUŽITÍ

Pro histochemickou demonstraci intracytoplasmatické redukce NBT v neutrofilech k identifikaci neutrofilní dysfunkce nebo rozlišení pyrogenní infekce.<sup>2</sup> NBT barvicí reagentie jsou určeny k "diagnostice in vitro".

Park a jeho kolegové<sup>1</sup> se jako první zasloužili o aplikaci testu redukce neutrofilů pomocí tetrazolium nitromodře (NBT) jako diagnostické pomůcky v rozlišení horečnatých stavů indukujících bakterie od stavů nebakteriálního původu. Test zahrnuje inkubaci krve pufovaným roztokem NBT. Nátěry se připravují, barví a vyšetřují mikroskopicky, aby se stanovilo procento neutrofilů vykazujících intracytoplasmatické usazeniny formazanu. Toto procento se obvykle zvyšuje při bakteriální infekci.

Některé chorobné stavy, zejména ty s metabolickými defekty neutrofilní funkce, vykazují nízké nebo normální hodnoty testu NBT dokonce i tehdy, je-li přítomna bakteriální infekce. Tyto podmínky lze detekovat pomocí modifikace testu NBT zahrnutím stimulace in vitro fagocytárního systému. Stimulaci lze provést přidáním bakteriálních kultivačních filtrátů,<sup>2,3</sup> mléčných částic,<sup>4,5</sup> zymosanu,<sup>6</sup> endotoxinu,<sup>7-9</sup> ve skle,<sup>9</sup> nebo vysoké koncentrace heparinu,<sup>9-12</sup> do inkubační směsi krve NBT. In vitro stimulace krve z normálních jedinců, bez buněčných nebo humorálních defektů a bez zhoršení v granulocytickém metabolismu, budou vykazovat zvýšené procento neutrofilů s obsahem formazanu. Buňky pacientů s defekty (např., chronická granulomatózní porucha, CGD) nevykazují pozitivní odezvu, ani při stimulaci.<sup>4,6,8,11</sup>

Objevila se řada dokladů,<sup>2,4,7,13-27</sup> které buď potvrzují nebo odmítají původní požadavky<sup>1</sup> ohledně diagnostické neužitečnosti tohoto testu. V přehledu současného stavu testu NBT v klinickém diagnostifikování navrhuje Segal,<sup>28</sup> což je téměř hodnota v diagnostice pyrogenní infekce. Jako odpověď na tento posudek, poukázali Freeman a King<sup>29</sup> na to, že konfliktní výsledky různých laboratoří mohou vycházet z použití chybně standardizovaných modifikací původního postupu podle Parka.<sup>1</sup>

Prokázané technické faktory, které ovlivňují výsledky testu NBT, jsou:

1. Doba a teplota uchovávání krve před provedením analýzy.<sup>9,10</sup>
2. Doba a teplota při které je krevní směs NBT inkubována.<sup>6,9-12,30-34</sup>
3. Koncentrace heparinu nebo NBT.<sup>6,9-12,31-34</sup>
4. Kapilární krev versus žilní krev.<sup>25</sup>
5. Kontakt s umělou hmotou nebo křemíkovým sklem během inkubace.<sup>34</sup>
6. Pozorované zkušenosti.<sup>15,29</sup>
7. Kontakt s umělou hmotou nebo nekřemíkovým sklem během skladování a inkubace.<sup>6</sup>
8. Odběr do Vacutainer® zkumavek.<sup>24</sup>
9. Použitá kritéria pro stanovení buněk jako pozitivní a negativní.<sup>2,11,26,33,35</sup>
10. Použití EDTA jako antikoagulantu; výsledná inhibice odezvy NBT.<sup>3,12</sup>

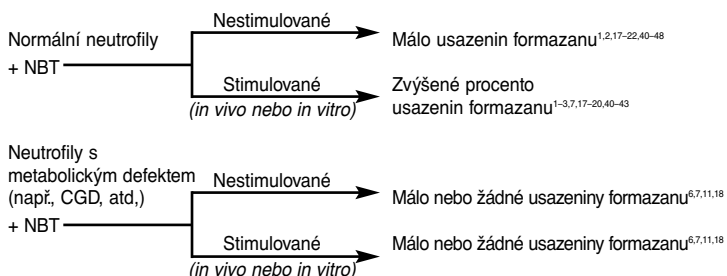
Inhibiční efekt EDTA se, jak se zdá, odstraní, jestliže je test prováděn na vrstvách buffy coat z plné krve za přítomnosti polymeru sacharózy Ficoll®.<sup>33</sup> Ficoll® by měl mít ochranný efekt na cytoplasmatickou membránu leukocytů během jejich inkubace s NBT.<sup>36</sup> Použití vrstev buffy coat na koncentrované neutrofile, což zkracuje čas výpočtu, navrhnul rovněž Patterson<sup>27</sup> a další.<sup>20,38</sup>

Pro potřeby standardizace nabízí Sigma-Aldrich semikvantitativní postup NBT, založený na modifikaci metody Feigina a kol.,<sup>17,34</sup> která je odvozena od referenční metody Parka a kolektivů.<sup>1</sup>

Test NBT se doporučuje jako pomůcka při:-

1. Identifikaci pacientů s chronickou granulomatózní chorobou nebo podobnými stavy z důvodu metabolických defektů neutrofilní funkce.<sup>4-6,11,39</sup>
2. Rozlišení horečnatých stavů nebo leukocytóz bakteriální infekce od nebakteriálního původu.<sup>7,17,18</sup>
3. Stanovení odezvy na terapii antibiotiky.<sup>1,2,7,17-19</sup>
4. Sledování pacientů s vysokou náchylností na bakteriální infekci.<sup>7,20</sup>

K provedení testu se heparinovaná krevní vzorky inkubují v pufovaném roztoku NBT za pečlivě kontrolovaných podmínek.<sup>1,11,34</sup> Potom se připraví nátěry, barví se a vyšetřují mikroskopicky za účelem stanovení procenta neutrofilů vykazujících intracytoplasmatické usazeniny redukované NBT (formazan).



Provádění "stimulované" procedury může být užitečné při odhalování přítomnosti vážného neutrofilního defektu.<sup>1,6,7,11,18,42,49,50</sup>

## REAGENCIE

**LAHVIČKA NBT**, katalogové č. 840-10

Nitromodř tetrazolium, 1 mg, lyofilizovaná, s fosfátovým puftrem a chloridem sodným.

**HEPARIN(N), SODNÁ SŮL**, katalogové č. 840-20

lahvička z křemíkového skla s obsahem heparinu(N) (porcine), 20 jednotek, pro odběr 1-mL plně krve.

**SKLENIČKY, SKLENĚNÉ S VÍČKY**, katalogové č. 840-50

Silikonizované skleničky pro inkubaci vzorků.

**ACCUSTAIN® WRIGHT BARVIVO**, katalogové č. WS 10

Barvivo podle Wrighta, 0,3 %, pufované při pH 6,8, v methanolu.

**STIMULANT**, katalogové č. 840-15

Bakteriální extrakty (neživé), lyofilizované.

**ULOŽENÍ A STABILITA:**

Skladujte lahvičky s NBT v temnu, v lednici (2–8 °C). Skladujte stimulant v lednici (2–8 °C). Skladujte heparin a lahvičky při pokojové teplotě (18–26 °C).

Skladujte barvivo ACCUSTAIN Wright Stain při pokojové teplotě (18–26 °C). Reagentie jsou stabilní po dobu použitelnosti uvedené na štítech.

**PŘÍPRAVA:**

ROZTOK NBT se připravuje rozředěním obsahu lahvičky NBT, katalogové č. 840-10, s 1,0 mL destilované vody. Nechte ustát na několik minut a potom promíchejte. Rekonstituovaný obsah lahvičky je stabilní 1 den, je-li skladována v lednici (2–8 °C).

ROZTOK STIMULANT se připravuje rozředěním stimulantu, katalogové č. 840-15, s 1,5 mL destilované vody. Míchejte až se rozpustí. Uchovávejte při teplotě pod 0 °C. Roztok lze zmrazit a rozmrazit vícekrát.

**BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:**

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagentiemi. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a bezpečnosti.

US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Lahvičky NBT. Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí.

Lahvičky heparinu. Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí. Zasažené orgány: Krev

Stimulant. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná/

Roztok Wright Stain je HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Dráždí oči a pokožku. Udržujte mimo zdrojů zapálení – zákaz kouření. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

EU Prohlášení o rizicích a bezpečnosti (Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná)

Lahvičky NBT. Zamezte kontaktu s kůží a očima. Nevdechujte prach.

Stimulant. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

Roztok Wright Stain je VYSOCE HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Vysoce hořlavý. Toxický: Možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Udržujte mimo zdrojů zapálení – zákaz kouření. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice.

## POSTUP

**ODBĚR VZORKŮ:**

Doporučuje se provádět odběr vzorků v souladu s dokumentem M29-A2 směrnice NCCLS. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplné zajištění, že krevní vzorky nebo tkáň nebudou přenášet infekci. Proto všechny krevní deriváty nebo tkáňové vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční.

Odběr krve nesmí být proveden více než 2 hodiny před provedením testu. Není-li krev testována ihned, lze vzorky uchovat v lednici.<sup>9,33</sup> Použijte umělohmotnou stříkačku pro vstupnou funkci. Je třeba zabránit vstupu tkáňových štáv. Před vypuzením přesně 1 mL krve do silikonizované odběrní zkumavky obsahující 20 jednotek Heparinu (katalogové č. 840-20) se opatrně vyjme jehla. Opatrně, avšak důkladně promíchejte, provádějte pomocí lehkého sklápění a "otáčení" lahvičky asi po dobu 30 sekund. Zamezte kontaktu krve s uzávěrem.

**POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:**

Mikroskop s olejovým objektivem

Pipetovací nástroje pro přesné dávky množství požadovaných pro test

Vodní lázeň, 37 °C

Mikroskopická sklička

**POZNÁMKY:**

Jestliže je procedura prováděna na vzorcích normální krve, měla by odezva být vyšší. Pokud tomu tak není, je reagentie zřejmě zkažená.

Tenké nátěry poskytují větší počet neutrofilů, to je zejména důležité, pokud relativní i absolutní počty neutrofilů jsou nízké, což umožňuje rychlejší výpočet.

Každá laboratoř musí stanovit optimální čas barvení.

Důrazně se doporučuje, aby každá laboratoř stanovila svůj normální rozsah. Krev z normálních jedinců by se měla provádět oběma popsány postupy jako kontrola s každou sérií prováděných testů. Pokud reagenční systém pracuje správně, počet buněk obsahujících formazan bude vyšší než počet normální po stimulaci kontrol bakteriálním extraktem.

Kvantitativní odezva klinicky zdravých jedinců získaná testem se stimulovaným NBT se výrazně liší,<sup>2,3</sup> což činí interpretaci obtížnou. Avšak hodnoty testu NBT jsou obvykle vyšší o dalších 10–50 % pozitivních buněk z důvodu přítomnosti různých stimulantů.<sup>2,3,9,24</sup> Například, nestimulovaný vzorek, který poskytne 10 % pozitivních buněk, po stimulaci lze očekávat 20 až 60 % pozitivních buněk. Použití stimulantu, katalogové č. 840-15, jak je popsáno výše, by měl poskytnout vyšší odezvu v krvi ze zdravých jedinců.

Byly hlášeny zvýšené hodnoty, když je plná krev nahrazena v reakční směsi mozkomíšním mokem z případů bakteriálních meningitid,<sup>44</sup> nebo synoviálním mazem z případů pyrogenní artritidy.<sup>53</sup> Použití jiných než krevních tělesných tekutin není ještě zcela vyhodnoceno a zatím nelze poskytnout posudek ohledně jejich použití s dodávanými reagenčními.

Údaje získané z tohoto postupu slouží pouze jako diagnostická pomůcka a měly by se prověřit ve spojení s jinými klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

## POSTUP:

### Nestimulované:

Stimulovaný test NBT (úprava plné krve bakteriálním extraktem) lze provádět jako pozitivní kontrolu ve spojení nebo současně, nestimulovaným testem NBT za účelem detekce metabolických defektů neutrofilní funkce. Stimulovaný test NBT je rovněž popsán.

### Inkubace vzorku a příprava nátěrů

- Umělohmotnou pipetou přeneste 0,12 mL roztoku NBT do lahvičky, katalogové č. 840-50.
- Přidejte 0,2 mL dobře promíchané heparinované krve. Sklápěním a "otáčením" lahvičky opatrně, ale důkladně promíchejte. Nepřevracujte lahvičku. Těsně uzavřete.
- Inkubujte při 37 °C na 10 minut. Vyjměte a nechte ustát při pokojové teplotě (18–26 °C) na dalších 10 minut.
- Promíchejte směs heparinované krve a NBT opakovaným opatrným "otáčením".
- Umělohmotnou pipetou přeneste 50–75 µL směsi na čisté skleněné podložní sklo.  
**POZNÁMKA:** Při přípravě nátěru je třeba dávat pozor, aby se mechanickým působením nezničily bílé krvinky.
- Nátěry připravujte středně tenké, aby se snížila možnost mechanického poškození buněk obsahujících formazan, které se stávají křehčími.<sup>6,34</sup> Nechejte nátěry uschnout.
- Upravte nátěry barvivem ACCUSTAIN Wright Stain, katalogové č. WS 10, následujícím způsobem:
  - Zavlažte suché nátěry 1 mL barviva na 15 sekund.
  - Na navlhčené nátěry přidejte 1 mL destilované vody a nechte ustát 30 sekund (delší čas zvyšuje intenzitu zabarvení).
  - Propláchněte ve vodě, nechte odtéci a vysajte nebo usušte na vzduchu.

### Stimulovaný:

Tento postup lze provádět současně s nestimulovaným testem NBT nebo následně po něm jako pomůcku při detekování metabolických defektů funkce neutrofilů (viz část "Použití").

### Inkubace vzorku a příprava nátěrů:

- Přeneste 0,1 mL roztoku NBT do lahvičky, katalogové č. 840–50.
- Umělohmotnou pipetou přidejte 0,05 mL heparinované krve a 5 µL roztoku stimulantu. Sklápěním a "otáčením" lahvičky opatrně, ale důkladně promíchejte. Těsně uzavřete.
- Pokračujte kroky postupu 3 až 7 jako v "Postupu (nestimulovaný)" a pokračujte částí "Mikroskopické vyšetření a výpočet".

## CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

Hlášené hodnoty testu co se týče procenta pozitivních (obsahujících formazan) neutrofilů.

### Mikroskopické vyšetření a výpočet:

Prohlédněte pomocí olejového objektivu nabarvené nátěry a spočítejte 100 nebo více neutrofilů. Jako pozitivní zaznamenejte takové neutrofilie, které vykazují usazeniny formazanu. Občas lze pozorovat difúzní granularní zabarvení, ale ve většině případů se objeví velké, nepravidelně ohnuté, tmavě červené až černé intracytoplazmatické inkluze. Při započítávání pozitivních neutrofilů se doporučuje postupovat od předu dozadu.<sup>34</sup> Je třeba splnit následující:

- Neutrofilie musí být celé, s intaktní buněčnou membránou.
- Neutrofilie musí být odděleny od ostatních buněk nebo buněčného materiálu (s výjimkou červených krvinek). Neutrofilie připojené ve shlucích leukocytů nebo destiček nelze započítat.
- Aby se neutrofilie daly považovat za pozitivní, musí obsahovat usazeniny formazanu jako nepravidelně navršenou jednotlivou hmotu.
- Zaznamenává se procento pozitivních 100 nebo více neutrofilů.

**POZNÁMKA:** započítávají se pouze neutrofilie. Usazeniny formazanu se mohou objevit i na monocytech nebo shlucích destiček.<sup>1-3,51,52</sup> Jako další zpracování, je možno stanovit procento NBT-pozitivních neutrofilů ve srovnání s celkovým počtem bílých krvinek a umožnit tak výpočet absolutního počtu pozitivních buněk. Feigin a jeho spolupracovníci<sup>17</sup> vygenerovali procento NBT-pozitivních a absolutní počet NBT-pozitivních neutrofilů za účelem vzniku nomogramu pro klasifikaci testovaných pacientů. Avšak použití jejich publikovaného nomogramu nelze doporučit, aniž by byla ověřena přesnost aplikace ve vaší laboratoři.

### OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Normální rozsah <sup>17</sup>	2–17 %	Pozitivní buňky
Průměr	9 %	Pozitivní buňky

Většina vědeckých pracovníků<sup>1-3,14,18,20-22,40-48,53-55</sup> uvádí průměrné hodnoty klinicky zdravých jedinců jako 10 % nebo méně pozitivních (obsahujících formazan) neutrofilů, avšak některé vzorky mohou poskytovat hodnoty vyšší než 17 %.<sup>17</sup> Většina pozorovatelů souhlasí<sup>1,2,17-21,40-42</sup> že procento pozitivních neutrofilů většinou stoupne v případě výskytu

bakteriální infekce, jsou-li leukocyty metabolicky normální. Paterson a Matula<sup>2</sup> prokázali, že všichni pacienti s bakteriózou vykazují zvýšené hodnoty testu NBT.

### Normální nebo nízké hodnoty v nepřítomnosti bakteriální infekce jsou hlášeny u:

Virových onemocnění<sup>1,2,7,17</sup>  
Revmatických artritid<sup>1,5,53</sup>  
Pulmonárního embolizmu<sup>13</sup>  
Pacientů s transplantovanou tkání<sup>2,7</sup>  
Rakoviny<sup>2,18</sup>  
Žen po porodu<sup>7,47</sup>  
Pacientů po operaci<sup>7</sup>  
Jiné horečnaté stavy (nebo vykazující leukocytózu) nebakteriálního původu<sup>1,2,7,15,18</sup>

### Normální nebo snížené hodnoty v přítomnosti bakteriální infekce jsou hlášeny u:

Místní infekce<sup>7,13,53,56</sup> (In vitro studie indikují, že neutrofilní odezva vyžaduje stimulaci, aby byla v adekvátní síle<sup>2</sup>)  
Aplikace kortikosteroidů, fenybutazonu a imuno-supresivních prostředků<sup>43,47,49,54</sup>  
Účinnost terapie antibiotiky může být indikována snížením pozitivního procenta někdy i během méně než 6 hodin<sup>18</sup>  
Primární tuberkulóza<sup>7,13</sup>  
Metabolické defekty neutrofilní funkce, například:  
Chronická granulomatózní nemoc<sup>4,7,8,11,42,49</sup>  
Neutrofilické nedostatky myeloperoxidázy<sup>57</sup> nebo glukoso-6-fosfát dehydrogenázy<sup>50</sup>  
Vrozené a získané agamaglobulinemie<sup>7</sup>  
Systemic lupus erythematosus<sup>1,2,5,18</sup>  
Chorobné stavy vyznačující se imunními komplexy<sup>15</sup>  
Lipochrome histiocytóza<sup>7</sup>  
Chronická myeloidní leukémie<sup>43,44</sup>  
Kwashiorkor<sup>59</sup>  
Diabetes<sup>58</sup>  
Většina infekcí<sup>22,27,54,57</sup>

### Zvýšené hodnoty jsou hlášeny u:

Bakteriálních infekcí<sup>1-3,7,13,17-21,33,40-42,53,55,57,58</sup>  
Nokardie infekce nebo jiné systemické plísňové choroby<sup>1,2,57</sup>  
Různé parazitické infekce, včetně malárie<sup>2,40,41,48</sup>  
Miliární tuberkulóza<sup>7,13</sup>  
Tuberkulární meningitida<sup>7,13</sup>

### Zvýšené hodnoty v nepřítomnosti bakteriální infekce jsou hlášeny u:

Normální kojenci, starší méně než dva měsíce (rovněž novorozenci a předčasně narození kojenci)<sup>7,35,42,55,59</sup>  
Těhotenství<sup>46</sup>  
Chekiak-Higashi syndrom<sup>60</sup>  
Idiopatická myelofibróza<sup>15,43</sup>  
Osteogenesis imperfecta<sup>21</sup>  
Hemofilie<sup>21</sup>  
Hodgkinova nemoc a další lymfomy<sup>47,61</sup>  
Behcetův syndrom<sup>62</sup>  
Nemoci zánětu střev<sup>14</sup>  
Tyfoidní / paratyfoidní imunizace (během několika hodin)<sup>13,33,60</sup>  
Terapie streptokinázy<sup>22</sup>  
Virové meningitidy<sup>54</sup>  
Virové hepatitidy<sup>63</sup>  
Post-dialýza<sup>20</sup>  
Pacienti užívající orální antikoncepci<sup>64</sup> (některé zprávy uvádějí, že užívání orální antikoncepce nemá vliv)<sup>45,46</sup>  
Infarkt myokardu<sup>65</sup>

Byly provedeny studie reprodukovatelnosti stejným technologem na krvi 25 pacientů, použitím popsaného postupu. Reprodukované výsledky vyjadřující procento pozitivních buněk na NBT, jsou v rozsahu od 2–90 %. Použitím statistické metody nejmenších čtverců byl získán korelační koeficient 0,9834 mezi duplikáty.

Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

## REFERENCE

- Park BH, Fikrig SM, Smithwick EM: Infection and nitroblue-tetrazolium reductions by neutrophils: a diagnostic aid. *Lancet* 2:532, 1968
- Matula G, Paterson PY: Spontaneous in vitro reduction of nitroblue tetrazolium by neutrophils of adult patients with bacterial infection. *N Engl J Med* 285:311, 1971
- Freeman R, King B: Technique for the performance of the nitroblue tetrazolium (NBT) test. *J Clin Pathol* 25:912, 1972
- Baehner RL, Nathan DG: Quantitative nitroblue tetrazolium test in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 278:971, 1968
- Wenger ME, Bole GG: Nitroblue tetrazolium dye reduction by peripheral leukocytes from rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients measured by a histochemical and spectrophotometric method. *J Lab Clin Med* 82:513, 1973
- Gifford RH, Malawista SE: The nitroblue tetrazolium reaction in human granulocytes adherent to a surface. *Yale J Biol Med* 45:119, 1972
- Park BH: The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid. *J Pediatr* 78:376, 1971
- Ochs HD, Igo RP: The NBT slide test: A simple screening method for detecting chronic granulomatous disease and female carriers. *J Pediatr* 83:77, 1973

9. Bjorksten B: The influence of technical factors on the NBT test. *Scand J Haematol* 12:46, 1974
10. Gordon PA, Stuart J, Lee TR, Breeze GR, Pugh RNH: The cyto centrifuge NBT test. *J Clin Pathol* 28:674, 1975
11. Belcher RW, Czarnetzki B: A simple screening test for chronic granulomatous disease. *Am J Clin Pathol* 60:450, 1973
12. Rothwell DJ, Dumas BT: The effect of heparin and EDTA on the NBT test. *J Lab Clin Med* 85:950, 1975
13. Silverman EM, Ryden SE: The nitroblue tetrazolium (NBT) test: A simple, reliable method and a review of its significance. *Am J Med Technol* 40:151, 1974
14. Bittner SJ, Kieff E, Windhorst D, Meier P: The use of the unstimulated nitroblue tetrazolium test as a routine screening test for bacterial infection in an adult population: A reassessment. *Am J Clin Pathol* 60:843, 1973
15. Segal AW, Trustey SF, Levi AJ: Re-evaluation of nitroblue tetrazolium test. *Lancet* 2:879, 1973
16. Feigin RD: NBT test in the diagnosis of febrile patients. *N Engl J Med* 285:347, 1971
17. Feigin RD, Shackelford PG, Choi SC, Flake KK, Franklin FA Jr, Eisenberg CS: Nitroblue tetrazolium dye test as an aid in the differential diagnosis of febrile disorders. *J Pediatr* 78:230, 1971
18. Douwes FR: Clinical value of NBT test. *N Engl J Med* 287:822, 1972
19. Gly-Jones R: NBT test. *Lancet* 2:161, 1973
20. Winchester JF, Gordon AM, Rowan RM, Lindsay RM, Black DA: Interpretation of the nitroblue tetrazolium test in regularly dialyzed patients. *Lancet* 2:292, 1973
21. Humbert JR, Marks MI, Hathaway WE, Thoren CH: The histochemical nitroblue tetrazolium reduction test in the differential diagnosis of acute infections. *Pediatrics* 48:259, 1971
22. Hawkins J: The NBT test in systemic bacterial infection. *Lancet* 1:1065, 1973
23. Editorial: Nitroblue tetrazolium: A routine test? *Lancet* 2:909, 1971
24. Steigbigel RT, Johnson PK, Remington JS: The nitroblue tetrazolium reduction test versus conventional hematology in the diagnosis of bacterial infection. *N Engl J Med* 290:235, 1974
25. Editorial: Another look at the NBT test. *Lancet* 1:664, 1974
26. Bjorksten B: The nitroblue tetrazolium (NBT) test – A methodological and clinical study. Umea University Medical Dissertations, No. 15, 1974
27. Lenny W, Suvatte V, Tuchinda S: NBT test in overwhelming bacterial infection. *Lancet* 2:465, 1974
28. Segal AW: Nitroblue-tetrazolium tests. *Lancet* 2:12438, 1974
29. Freeman R, King B: Nitroblue-tetrazolium tests. *Lancet* 1:104, 1975
30. Charette R, Komp DM: NBT test and incubation temperature. *N Engl J Med* 287:991, 1972
31. Hellum KB, Solber CO: Influence of anticoagulants on the nitroblue tetrazolium test. *Scand J Infect Dis* 5:67, 1973
32. Hohn DC, Lehrer RI: Mechanism of the heparin effect on the nitroblue-tetrazolium slide test. *Infect Immun* 10:772, 1974
33. Gordon AM, Rowan RM, Brown T, Carson HG: Routine application of the nitroblue tetrazolium test in the clinical laboratory. *J Clin Pathol* 25:52, 1973
34. Feigin RD: Personal Communication
35. Bjorksten B: The NBT test using venous and capillary blood. *Scand J Haematol* 11:270, 1973
36. Stuart J, Simpson JS: Dehydrogenase enzyme cytochemistry of unfixed leucocytes. *J Clin Pathol* 23:517, 1970
37. Patterson BB: Nitroblue tetrazolium reduction in neutrophils – a modification using the buffy coat. *Lab Med* 6:50, 1975
38. Staples WG, Jacobs P: Still more on NBT technic. *N Engl J Med* 290:572, 1974
39. Shousha S, Kamel K: Nitroblue tetrazolium test in children with kwashiorkor with a comment on the use of latex particles in the test. *J Clin Pathol* 25:494, 1972
40. Andersen BR: NBT test in malaria. *Lancet* 2:317, 1971
41. Chretien JH, Garagusi VF: NBT test in parasitic disease. *Lancet* 2:549, 1971
42. Humbert JR, Kurtz ML, Hathaway WE: Increased reduction of nitroblue tetrazolium by neutrophils of newborn infants. *Pediatrics* 45:125, 1970
43. Ng RP, Chan TK, Todd D: NBT test – False-negative and false-positive results. *Lancet* 1:1341, 1972
44. Esposito R, DeLalla F: NBT test in bacterial meningitis. *Lancet* 1:747, 1972
45. Arrowsmith D, Morin RJ: Oral contraceptives and the NBT test. *Lancet* 1:148, 1973
46. Ramsdale EH, Mowbray JF: Positive NBT tests in pregnancy. *Lancet* 1:1246, 1973
47. Silverman EM, Reed RE: The nitroblue tetrazolium test in lymphoma. *Am J Clin Pathol* 59:198, 1973
48. Pujol-Moix MN: NBT test in malaria. *Lancet* 2:871, 1971
49. Miller DR, Kaplan HG: Decreased nitroblue tetrazolium dye reduction in the phagocytes of patients receiving prednisone. *Pediatrics* 45:861, 1970
50. Cooper MR, Dechatelet LR, Lavia MF, McCall CE, Spurr CL, Baehner RL: Complete deficiency of leukocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase with defective bactericidal activity. *J Clin Invest* 49:21a, 1970
51. Dejesus M Jr, Fikrig S, Detwiler T: Phagocytosis-stimulated nitroblue tetrazolium reduction by platelets. *J Lab Clin Med* 80:117, 1972
52. Park BH, Biggar WD, L'Esperance P, Good RA: NBT test on monocytes of neutropenic patients. *Lancet* 1:1064, 1972
53. Gupta RC, Steigerwald JC: Nitroblue tetrazolium test in the diagnosis of pyogenic arthritis. *Ann Intern Med* 80:723, 1974
54. Rubenstein A, Pelet B: False-negative NBT tests due to transient malfunction of neutrophils. *Lancet* 1:382, 1973
55. Bjorksten B, Ekstrand T, Gothefors L, Ostberg Y: The nitroblue tetrazolium (NBT) test and white blood cell count in acute throat infections. *Scand J Infect Dis* 7:45, 1975
56. Chretien JH, Garagusi VF: NBT test and steroid therapy. *Lancet* 2:653, 1972
57. Lehrer RI: Defective candidacidal activity of leukocytes from patients with systemic candidiasis. *Clin Res* 18:443, 1970
58. Pujol-Moix MN: Nitroblue-tetrazolium reducing capacity of neutrophils in diabetes. *N Engl J Med* 289:920, 1973
59. Cocchi P, Mori S, Becattini A: NBT tests in premature infants. *Lancet* 2:1426, 1969
60. Grush OC, Mauer AM: Neutrophil function and NBT dye reduction. *Lancet* 2:383, 1969
61. Soonatrakul W, Andersen BR: Nitroblue tetrazolium test in lymphomas. *N Engl J Med* 288:218, 1973
62. Okuda K, Tanokoro I, Sekido M: The NBT test in Bechet's syndrome. *N Engl J Med* 290:915, 1974
63. Hellum KB, Solbert CO: Positive NBT test in acute viral hepatitis. *Lancet* 1:1181, 1973
64. Norden CW, Reese R: Oral contraceptives and NBT test. *N Engl J Med* 297:254, 1972
65. Lauter CP, el Khatib MR, Rising JA, Robin E: The nitroblue tetrazolium test and acute myocardial infarction. A study in patients. *Ann Intern Med* 79:59, 1973

Vacutainer je registrovanou ochrannou známkou společnosti Becton, Dickson and Company  
Ficoll je registrovanou ochrannou známkou společnosti Pharmacia

Sigma-Aldrich, Inc. garantuje, že její produkty se shodují s informacemi obsaženými v této a jiných publikacích Sigma-Aldrich. Kupující musí stanovit vhodnost produktu(ů) pro dané použití. Mohou platit dodatečné podmínky. Viz zadní strana faktury nebo útržek obalu, kde jsou uvedeny dodatky k prodejním podmínkám.

Postup č. 840  
Předchozí revize: 2003-10  
Revidováno: 2010-06



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse  
Egham, TW20 9BD Velká Británie

#### SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103USA 314-771-5765  
Technické služby: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-3122  
nebo e-mailujte na [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Objednávky: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH  
PO. 1120, 89552 Steinheim, Německo 49-7329-970