

USO PREVISTO

Per la rivelazione istochimica del nitro-blu-tetrazolio (NBT) intracitoplasmatico nei neutrofili, con l'obiettivo di identificare una disfunzione dei neutrofili e/o distinguere un'eventuale infezione piretogenica.² I reagenti per la colorazione con NBT sono riservati al solo "uso diagnostico in vitro".

Va a Park e soci¹ il merito di avere utilizzato per primi il test di riduzione nitro-blu-tetrazolio (NBT) dei neutrofili come strumento diagnostico per distinguere le condizioni febbrili di origine batterica da quelle di origine non batterica. Il test in questione prevede l'incubazione del sangue con una soluzione tamponata di NBT. Gli strisci vengono preparati, colorati ed esaminati al microscopio per stabilire la percentuale di neutrofili contenenti depositi intracitoplasmatici visibili di formazan. In genere questa percentuale aumenta in presenza di infezioni di origine batterica.

In determinate condizioni, in particolare in presenza di patologie che comportano deficit metabolici della funzione neutrofila, il test NBT produce valori normali anche se è accertata un'infezione batterica. Per riconoscere queste particolari condizioni, è necessario apportare una modifica al test NBT e includere una procedura di stimolazione *in vitro* del sistema fagocitico. Per conseguire tale stimolazione, è necessario incorporare nella miscela di incubazione sangue-NBT: un filtrato della coltura batterica,^{2,3} particelle in lattice,^{4,5} Zymosan,⁶ endotossina,⁷⁻⁹ contatto in vetro⁶ oppure eparina a concentrazioni elevate.⁹⁻¹² La stimolazione *in vitro* del sangue dei donatori sani (che non presentano cioè carenze cellulari o umorali né alterazioni del metabolismo granulocitico) produrrà un aumento consistente della percentuale di neutrofili contenenti formazan. Le cellule dei pazienti affetti dai deficit descritti (ad esempio granulomatosi cronica, CGD) non sono in grado di produrre una risposta positiva, neppure se stimolate.^{4,6,8,11}

Numerose pubblicazioni sull'argomento^{2,4,7,13-27} hanno alternativamente ribadito o negato le teorie originali,¹ secondo le quali il test sarebbe privo di utilità diagnostica. Riesaminando lo stato attuale del test NBT nella diagnosi clinica, Segal²⁸ ha espresso un'opinione sfavorevole circa la validità del test nella diagnosi delle infezioni piretogene. Rispondendo alle critiche mosse, Freeman e King²⁹ hanno invece puntualizzato che i risultati discrepanti ottenuti nei diversi laboratori possono essere causati da una cattiva standardizzazione delle modifiche apportate alla procedura originale di Park.¹

Sono stati indicati alcuni fattori tecnici che possono influenzare i risultati del test NBT:

1. Durata e temperatura di conservazione del sangue prima del saggio.^{9,10}
2. Durata e temperatura di incubazione della miscela di sangue-NBT.^{6,9-12,30-34}
3. Concentrazione di eparina o NBT.^{6,9-12,31-34}
4. Uso di sangue capillare anziché sangue venoso.³⁵
5. Uso di un contatto in plastica anziché un contatto in vetro silconato durante l'incubazione.³⁴
6. Esperienza del tecnico di laboratorio.^{15,29}
7. Uso di un contatto silconato anziché un contatto non silconato durante la conservazione o l'incubazione.⁶
8. Raccolta in provette Vacutainer[®].²⁴
9. Criteri adottati per la classificazione delle cellule come positive o negative.^{2,11,26,33,35}
10. Uso di EDTA come anticoagulante; conseguente inibizione della risposta NBT.^{3,12}

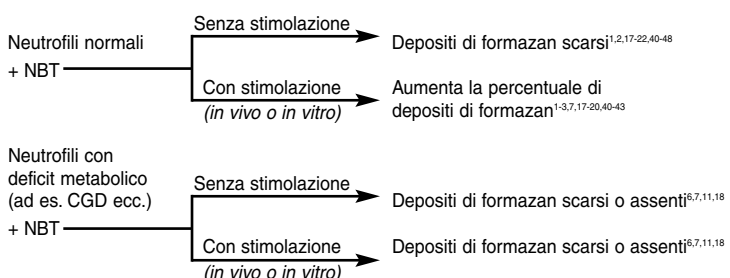
Sembra che l'effetto inibitorio dell'EDTA possa essere annullato eseguendo il test su preparati con sovrantante ottenuti da sangue intero in presenza di Ficoll[®], un polimero del saccarosio.³³ Si ritiene che il Ficoll[®] eserciti un effetto protettivo sulla membrana citoplasmatica dei leucociti durante l'incubazione di questi ultimi con NBT.³⁶ L'uso di campioni con sovrantante per concentrare i neutrofili e conseguentemente abbreviare i tempi del conteggio è stato suggerito anche da Patterson³⁷ e altri.^{20,38}

Sensibile alle esigenze di standardizzazione, Sigma-Aldrich propone una procedura per colorazione con NBT semiquantitativa basata su una revisione del metodo di Feigin et al.,^{17,34} che a sua volta era ispirata al metodo di riferimento elaborato da Park e soci.¹

Il test NBT viene proposto come strumento di ausilio per i seguenti compiti:

1. Identificazione dei pazienti affetti da granulomatosi cronica o condizioni analoghe, dovute a deficit metabolici della funzione neutrofila.^{4,6,11,39}
2. Distinzione di condizioni febbrili e/o leucocitosi dovute a infezioni batteriche da manifestazioni di origine non batterica.^{1,7,17,18}
3. Valutazione della risposta alla terapia antibiotica.^{1,2,7,17-19}
4. Monitoraggio di pazienti particolarmente soggetti ad infezioni batteriche.^{7,20}

Per eseguire il test, è necessario che i campioni di sangue eparinizzati siano messi ad incubare in una soluzione tamponata di NBT, in condizioni altamente controllate.^{1,11,34} Successivamente gli strisci devono essere preparati, colorati ed esaminati al microscopio per stabilire la percentuale di neutrofili contenenti depositi intracitoplasmatici di NBT ridotto (formazan).



REAGENTI

FLACONE DI NBT, n. di catalogo 840-10

Nitro-blu-tetrazolio, 1 mg, liofilizzato; con tampone fosfato e cloruro di sodio.

EPARINA(N) (SALE DI SODIO), n. di catalogo 840-20

Provette di vetro silconate contenenti eparina(N) (porcina) 20 unità; per la raccolta di 1 ml di sangue intero.

PROVETTE DI VETRO, CON TAPPO, n. di catalogo 840-50

Provette silconate per l'incubazione dei campioni.

COLORAZIONE DI WRIGHT ACCUSTAIN[®], n. di catalogo WS 10

Colorazione di Wright 0,3%, tamponata, a pH 6,8; in metanolo.

STIMOLANTE, n. di catalogo 840-15

Estratti batterici (non vitali), liofilizzati.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il flacone di NBT al buio, in frigorifero (2–8°C). Conservare lo stimolante in frigorifero (2–8°C). Conservare l'eparina e le provette a temperatura ambiente (18–26°C).

Conservare la colorazione di Wright ACCUSTAIN a temperatura ambiente (18–26°C). La soluzione rimane stabile sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

PREPARAZIONE

Preparare la SOLUZIONE NBT ricostituendo il flacone di NBT (n. di catalogo 840-10) con 1,0 ml di acqua distillata. Lasciare riposare per alcuni minuti, quindi mescolare in maniera energica. Il flacone ricostituito rimane stabile per 1 giorno in frigorifero (2–8°C).

Preparare la SOLUZIONE STIMOLANTE ricostituendo lo stimolante (n. di catalogo 840-15) con 1,5 ml di acqua distillata. Agitare per sciogliere. Conservare sotto 0°C. È possibile congelare e scongelare la soluzione più volte.

PRECAUZIONI

Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smettere i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Fare riferimento al foglio dati relativo alla sicurezza dei materiali per informazioni aggiornate riguardanti i rischi, i pericoli e la sicurezza associati all'uso di questi prodotti.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.S.A.)

Flaconi di NBT. Attenzione: evitare il contatto e l'inalazione.

Provette di eparina. Attenzione: evitare il contatto e l'inalazione. Organi colpiti: sangue. Stimolante. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

La colorazione di Wright è INFIAMMABILE e TOSSICA. Tossica per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Irritante per gli occhi e la cute. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Mantenere i contenitori ben chiusi. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.E.) – Attenzione: sostanze non ancora pienamente testate!

Flaconi di NBT. Evitare il contatto con la cute e gli occhi. Non respirare le polveri.

Stimolante. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

La colorazione di Wright è FACILMENTE INFIAMMABILE e TOSSICA. Facilmente infiammabile. Tossica: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossica per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Mantenere i contenitori ben chiusi. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile). Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi.

PROCEDURA

RACCOLTA DEI CAMPIONI:

Per la raccolta dei campioni, attenersi alla procedura descritta nel documento NCCLS numero M29-A2. Nessun metodo di analisi noto garantisce con assoluta certezza che i campioni di sangue o il tessuto non trasmettano infezioni. Di conseguenza tutti i derivati del sangue e i campioni di tessuto devono essere considerati potenziali veicoli di infezioni.

Il sangue deve essere raccolto non più di 2 ore prima dell'esecuzione del test. Se i campioni non vengono analizzati immediatamente, vanno conservati obbligatoriamente in frigorifero.^{9,33} Per la venipuntura si utilizza una siringa di plastica. Evitare di introdurre succhi tissutali. Rimuovere l'ago dalla siringa prima di erogare esattamente 1 ml di sangue in una provetta silconata per la raccolta del campione, contenente 20 unità di eparina (n. di catalogo 840-20). Mescolare delicatamente ma efficace, inclinando leggermente il flacone e facendolo ruotare per circa 30 secondi. Evitare che il sangue entri in contatto con il tappo.

MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Microscopio con obiettivo ad immersione in olio

Dispositivi di pipettazione per l'erogazione precisa dei volumi necessari per il saggio

Bagnomaria a 37°C

Vetrini per microscopio

NOTE

Quando la procedura viene eseguita utilizzando il reagente con un campione di sangue normale, si dovrebbe ottenere una risposta elevata. Se ciò non accade, è possibile che il reagente si sia deteriorato.

Se lo spessore dello striscio è alto, il numero di neutrofili contenuti sarà maggiore e ciò faciliterà il conteggio nel caso in cui i numeri relativi e assoluti di neutrofili risultino particolarmente bassi.

Ogni laboratorio deve fissare il proprio tempo di colorazione ottimale.

Si raccomanda inoltre ad ogni laboratorio di stabilire il proprio intervallo di normalità. Per ogni serie di analisi è necessario sottoporre alle due procedure descritte anche il sangue di soggetti normali, a scopo di controllo. Se il sistema di reagenti funziona in modo soddisfacente, il numero di cellule contenenti formazan risulterà superiore alla norma dopo la stimolazione del controllo con l'estratto batterico.

Il test NBT con stimolazione eseguito su soggetti clinicamente sani produce una risposta quantitativa estremamente variabile,^{2,3} pertanto è difficile interpretare i valori. Ad ogni modo, il test NBT produce in genere un incremento del 10–50% per quanto riguarda il numero di cellule positive. Tale aumento è giustificato dalla presenza di svariati stimolanti.^{2,3,9,24} Ad esempio, in un campione con un 10% di cellule positive senza stimolazione, l'incremento probabile dopo la stimolazione sarà del 20–60%. L'impiego dello stimolante (n. di catalogo 840-15) nel modo descritto in precedenza dovrebbe produrre una risposta elevata nel sangue di soggetti sani.

Sono stati osservati valori elevati quando, nella miscela di reazione, il sangue intero è stato sostituito con liquor cerebrospinale prelevato a soggetti con meningite batterica,⁴⁴ oppure con liquido sinoviale prelevato a soggetti con artrite pirogenica.⁵³ L'uso di fluidi corporei al posto del sangue intero non è stato approfondito abbastanza da poter esprimere un giudizio definitivo sui risultati che si possono ottenere con i reagenti.

I dati generati da questa procedura sono da utilizzarsi soltanto a sostegno della diagnosi e devono essere valutati congiuntamente ad altri esami e dati diagnostici.

PROCEDURA

Senza stimolazione

Contemporaneamente oppure successivamente a questo test NBT senza stimolazione è possibile effettuare un test NBT con stimolazione (sangue trattato con estratti batterici) da utilizzarsi come controllo positivo. Lo scopo è individuare eventuali deficit metabolici della funzione neutrofila. Più avanti viene fornita una descrizione del test NBT con stimolazione.

Incubazione del campione e preparazione degli strisci

1. Con una pipetta di plastica trasferire 0,12 ml di Soluzione NBT in una provetta (n. di catalogo 840-50).
2. Aggiungere 0,2 ml di sangue eparinizzato e ben miscelato. Mescolare in modo delicato ma efficace, inclinando leggermente la provetta e facendola ruotare. Non capovolgere la provetta. Stringere bene il tappo.
3. Incubare a 37°C per 10 minuti. Estrarre e lasciare riposare a temperatura ambiente (18–26°C) per altri 10 minuti.
4. Mescolare ancora la miscela di sangue eparinizzato-NBT ruotando la provetta delicatamente.
5. Con una pipetta di plastica trasferire 50–75 µl della miscela su un vetrino di vetro pulito. **NOTA** Procedere con cautela, cercando di non danneggiare i globuli bianchi durante la preparazione dello striscio.
6. Preparare un striscio con un discreto spessore per non danneggiare le cellule contenenti formazan, che diventano più fragili.^{6,34} Lasciare lo striscio ad asciugare all'aria.
7. Trattare lo striscio con colorazione di Wright ACCUSTAIN (n. di catalogo WS 10), secondo la modalità seguente:
 - a. Inondare lo striscio secco con 1 ml di colorazione per 15 secondi.
 - b. Per inondare lo striscio, aggiungere 1 ml di acqua distillata e lasciare asciugare per 30 secondi (con tempi più lunghi la colorazione si intensifica).
 - c. Sciacquare lo striscio con acqua, sgocciolare ed effettuare un'asciugatura rapida o all'aria.

Con stimolazione

La procedura descritta di seguito può essere effettuata contemporaneamente o successivamente al test NBT senza stimolazione. Rappresenta uno strumento ausiliario per l'individuazione di eventuali deficit metabolici della funzione neutrofila (fare riferimento al paragrafo "Uso previsto").

Incubazione del campione e preparazione degli strisci

1. Trasferire 0,1 ml di Soluzione NBT in una provetta (n. di catalogo 840-50).
2. Con una pipetta di plastica, aggiungere 0,05 ml di sangue eparinizzato e 5 µl di soluzione stimolante. Mescolare in modo delicato ma efficace, inclinando leggermente la provetta e facendola ruotare. Stringere bene il tappo.
3. Eseguire le operazioni descritte dal punto 3 al punto 7 del paragrafo "Procedura – Senza stimolazione" e proseguire con il paragrafo "Esame al microscopio e conteggio".

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I valori del test esprimono la percentuale di neutrofili positivi (contenenti formazan).

Esame al microscopio e conteggio

Esaminare lo striscio sottoposto alla colorazione utilizzando un obiettivo ad immersione in olio, quindi conteggiare 100 o più neutrofili in totale. Classificare come positivi tutti i neutrofili che presentano depositi di formazan. I neutrofili positivi avranno talvolta un aspetto diffusamente granuloso, ma prevalentemente avranno l'aspetto di inclusioni intracitoplasmatiche grandi, dalle forme irregolari, con un colore che va dal viola scuro al nero. Quando si conteggiano i neutrofili positivi, è fondamentale attenersi alle osservazioni di Feigin³⁴, ovvero:

1. Il neutrofilo deve essere integro, con la membrana cellulare intatta.
2. Il neutrofilo deve essere solitario, ovvero non deve essere a contatto né con un'altra cellula, né con altro materiale cellulare (ad eccezione dei globuli rossi). I neutrofili intrappolati in aggregati di leucociti o piastrine non devono essere conteggiati.
3. Per poter essere classificato come positivo, il neutrofilo deve contenere depositi di formazan sotto forma di masse grandi, distinte, con sagome irregolari.
4. Annotare la percentuale di neutrofili positivi rispetto ai 100 (o più) totali.

NOTA Vengono conteggiati solo i neutrofili. Possono formarsi depositi di formazan anche nei monociti o negli aggregati piastrinici.^{1-3,51,52} Per perfezionare ulteriormente il conteggio, è possibile calcolare la percentuale di neutrofili NBT-positivi contestualmente al numero dei globuli bianchi (conteggio totale e differenziale), in modo da determinare il numero assoluto di cellule positive. Feigin e collaboratori¹⁷ hanno utilizzato la percentuale di neutrofili NBT-positivi e il numero assoluto di neutrofili NBT-positivi per sviluppare un nomogramma per una classificazione sperimentale dei pazienti. Non si raccomanda l'uso del nomogramma pubblicato, a meno che il laboratorio non sia in grado di dimostrarne l'accuratezza.

VALORI ATTESI

Nella norma ¹⁷	2–17%	Cellule positive
Medi	9%	Cellule positive

Per la maggior parte dei ricercatori,^{1-3,14,18,20,22,40-48,53-55} i neutrofili positivi (contenenti formazan) corrispondono in media al 10% (o meno) nei soggetti sani, con alcune eccezioni che arrivano al 17%.¹⁷ Quasi tutti gli scienziati^{2,17-21,40-42} concordano nel sostenere che in genere la percentuale dei neutrofili positivi aumenta in presenza di un'infezione batterica, posto che i leucociti funzionino normalmente dal punto di vista metabolico. Paterson e Matula² hanno riscontrato valori elevati in tutti i pazienti affetti da batteriemia che sono stati sottoposti al test NBT.

Condizioni in cui sono stati riscontrati valori normali o bassi, in assenza di infezioni batteriche

Malattie virali^{11,27,17}
Artrite reumatoide^{1,5,53}
Embolia polmonare¹³
Pazienti sottoposti a trapianti di tessuto^{2,7}
Cancro^{2,18}
Donne nel periodo post-partum^{7,47}
Pazienti nel periodo postoperatorio⁷
Altre condizioni febbrili (o pazienti affetti da leucocitosi) di origine non batterica^{1,2,7,15,18}

Condizioni in cui sono stati riscontrati valori normali o particolarmente bassi, in presenza di infezioni batteriche

Infezioni localizzate^{7,13,53,56} (studi in vitro indicano che la risposta dei neutrofili necessita di uno stimolo di forza adeguato)
Assunzione di corticosteroidi, fenilbutazone e agenti immunosoppressivi^{43,47,49,54}
Terapia antibiotica, dove l'efficacia può essere dimostrata con una riduzione della percentuale di positività, talvolta anche in meno di 6 ore¹⁸
Tubercolosi primaria^{7,13}

Deficit metabolici della funzione neutrofila, quali:

Granulomatosi cronica^{17,8,11,42,49}
Carenze di neutrofili della mieloperossidasi⁵⁷ o della glucosio-6-fosfato deidrogenasi⁵⁰
Agammaglobulinemia congenita e acquisita⁷
Lupus eritematoso sistemico^{2,5,16}
Stati patologici caratterizzati da immunocomplessi¹⁵
Istiocitosi carotinoide⁷
Leucemia mieloide cronica^{43,44}
Kwashiorkor⁴⁹
Diabete⁵⁸
Infezioni diffuse^{22,27,54,57}

Condizioni in cui sono stati riscontrati valori elevati

Infezioni batteriche^{1-3,7,13,17-21,33,40-42,53,55,57,58}
Infezioni da Nocardia o altre malattie fungine sistemiche^{1,2,57}
Varie infezioni parassitarie, compresa la malaria^{2,40,41,48}
Tubercolosi miliare^{7,13}
Meningite tubercolare^{7,13}

Condizioni in cui sono stati osservati valori elevati, in assenza di infezioni batteriche

Lattanti normali, con meno di due mesi di età (anche neonati e prematuri)^{7,35,42,55,59}
Gravidanza⁴⁶
Sindrome di Chekiak--Higashi⁶⁰
Mielofibrosi idiopatica^{15,43}
Osteogenesi imperfetta²¹
Emofilia²¹
Linfoma di Hodgkin o altri linfomi^{47,61}
Sindrome di Behçet⁶²
Infiammazione intestinale¹⁴
Immunizzazione da tifo/paratifo (entro poche ore)^{13,33,60}
Terapia con streptochinasine²²
Meningite virale⁵⁴
Epatite virale⁶³
Post-dialisi⁶⁰
Pazienti che assumono contraccettivi orali⁶⁴ (alcuni studi indicano che i contraccettivi orali non hanno effetti)^{45,46}
Infarto del miocardio⁶⁵

Lo stesso tecnico di laboratorio ha condotto studi di riproducibilità sui campioni di sangue di 25 pazienti, applicando la metodica descritta. I risultati duplicati, espressi come percentuale di cellule NBT-positivo, hanno prodotto valori compresi tra 2 e 90%. L'uso del metodo statistico della regressione dei minimi quadrati ha prodotto un coefficiente di correlazione pari a 0,9834 tra i duplicati.

Se i risultati osservati si discostano dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per informazioni di supporto.

BIBLIOGRAFIA

1. Park BH, Fikrig SM, Smithwick EM: Infection and nitroblue-tetrazolium reductions by neutrophils: a diagnostic aid. *Lancet* 2:532, 1968
2. 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
3. Freeman R, King B: Technique for the performance of the nitroblue tetrazolium (NBT) test. *J Clin Pathol* 25:912, 1972
4. Baehner RL, Nathan DG: Quantitative nitroblue tetrazolium test in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 278:971, 1968
5. 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
6. Gifford RH, Malawista SE: The nitroblue tetrazolium reaction in human granulocytes adherent to a surface. *Yale J Biol Med* 45:119, 1972
7. Park BH: The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid. *J Pediatr* 78:376, 1971
8. 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, Doumas 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 è un marchio registrato di Becton, Dickinson and Company
Ficoll è un marchio registrato di Pharmacia

Sigma-Aldrich, Inc. garantisce che i propri prodotti sono conformi alle informazioni contenute nel presente documento e in altre pubblicazioni Sigma-Aldrich. Spetta all'acquirente stabilire se i prodotti sono idonei all'uso particolare che ne viene fatto. È possibile che sussistano ulteriori termini e condizioni. Vedere il retro della fattura o la distinta di imballaggio per i termini e le condizioni di vendita.

Procedura n. 840
Revisione precedente: 2003-10
Revisione: 2010-06



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD (Regno Unito)

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 (USA) +1 314 771 5765
Assistenza tecnica: a carico del destinatario +1 314 771 3122
o tramite e-mail all'indirizzo clintech@sial.com
Per ordinare: a carico del destinatario +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim (Germania) 49-7329-970