

## REAGENTES

### FRASCO DE NBT, N.º de Catálogo 840-10

Nitroazul de tetrazólio, 1 mg, liofilizado, com tampão fosfato e cloreto de sódio.

### SAL DE HEPARINA(N) SÓDICA, N.º de Catálogo 840-20

Frascos de vidro com revestimento de silicone contendo heparina(N) (porcina), 20 unidades, para a colheita de 1 mL de sangue total.

### FRASCOS DE VIDRO COM TAMPAS, N.º de Catálogo 840-50

Frascos com revestimento de silicone para incubação das amostras.

### COLORAÇÃO DE WRIGHT ACCUSTAIN<sup>®</sup>, N.º de Catálogo WS 10

Corante de Wright, 0,3 %, tamponado em metanol, pH 6,8.

### ESTIMULANTE, N.º de Catálogo 840-15

Extractos bacterianos (não viáveis), liofilizados.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Armazenar o frasco de NBT no escuro, refrigerado (2–8 °C). Armazenar o estimulante refrigerado (2–8 °C). Armazenar a heparina e os frascos à temperatura ambiente (18–26 °C).

Armazenar o corante de Wright ACCUSTAIN à temperatura ambiente (18–26 °C). O corante permanece estável até ao final do prazo de validade indicado no rótulo.

### PREPARAÇÃO:

Preparar a SOLUÇÃO DE NBT reconstituindo o frasco de NBT, N.º de Catálogo 840-10, com 1,0 mL de água destilada. Deixar assentar durante alguns minutos e, em seguida, misturar vigorosamente. O frasco reconstituído permanece estável durante 1 dia quando armazenado no frigorífico (2–8 °C).

Preparar a SOLUÇÃO ESTIMULANTE reconstituindo o estimulante, N.º de Catálogo 840-15, com 1,5 mL de água destilada. Abanar até dissolver. Armazenar a uma temperatura inferior a 0 °C. É possível congelar e descongelar a solução várias vezes.

### PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

### Declarações de risco e segurança dos EUA

Frascos de NBT. Atenção: Evitar o contacto e inalação.

Frascos de heparina. Atenção: Evitar o contacto e inalação. Órgão alvo: Sangue

Estimulante. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância

A solução de coloração de Wright é INFLAMÁVEL e TÓXICA. Tóxica por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Irritante para os olhos e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Manter o recipiente adequadamente fechado. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Declarações de risco e segurança da UE (Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para estas substâncias)

Frascos de NBT. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Não respirar as poeiras.

Estimulante. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

A solução de coloração de Wright é ALTAMENTE INFLAMÁVEL e TÓXICA. Altamente inflamável. Tóxica: Possibilidade de efeitos irreversíveis bastante graves por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Tóxica por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Manter o recipiente adequadamente fechado. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

## UTILIZAÇÃO PREVISTA

Destina-se à demonstração histoquímica da redução intracitoplásmica do NBT em neutrófilos para identificar a disfunção neutrofílica e/ou distinguir uma infecção pirogénica.<sup>2</sup> Os reagentes de coloração de NBT destinam-se à “utilização em diagnóstico *in vitro*”.

Park e os seus colaboradores<sup>1</sup> são considerados como sendo os primeiros a aplicar o teste de redução de neutrófilos de nitroazul de tetrazólio (NBT) para auxiliar o diagnóstico relativamente à diferenciação dos estados febris induzidos por bactérias dos estados que não tem origem bacteriana. O teste envolvia a incubação de sangue com uma solução tamponada de NBT. Os esfregaços são preparados, corados e examinados microscopicamente para determinar a percentagem de neutrófilos que apresentam depósitos intracitoplásmicos de formazan. Esta percentagem é normalmente mais elevada nas infecções bacterianas.

Alguns estados de doenças, especialmente os que envolvem um defeito metabólico da função dos neutrófilos, apresentam valores baixos ou normais no teste de NBT mesmo nos casos em que existe uma infecção bacteriana activa. É possível detectar estes estados através da modificação do teste de NBT, de modo a incluir uma estimulação *in vitro* do sistema fagocitário. Esta estimulação poderá ser obtida, incorporando um filtrado de cultura bacteriana,<sup>2,3</sup> partículas de látex,<sup>4,5</sup> zimosan,<sup>6</sup> endotoxina,<sup>7-9</sup> contacto de vidro,<sup>5</sup> ou concentrações elevadas de heparina,<sup>9-12</sup> na mistura de incubação de sangue e NBT. A estimulação *in vitro* de sangue de indivíduos normais, sem disfunções celulares ou humorais e sem deficiência no metabolismo de granulócitos, irá demonstrar um aumento acentuado na percentagem de formazan contendo neutrófilos. As células de doentes com este tipo de disfunções (por exemplo, doença granulomatosa crónica, DGC) não apresentaram uma resposta positiva, mesmo quando estimuladas.<sup>4,6,8,11</sup>

Surgiram várias comunicações<sup>2,4,7,19-27</sup> a confirmar ou a negar as reivindicações<sup>1</sup> originais relativamente ao grau de utilidade deste teste para fins de diagnóstico. Numa análise sobre a situação actual do teste de NBT no diagnóstico clínico, Segal<sup>28</sup> sugere que este teste tem pouco valor para o diagnóstico de infecção pirogénica. Em resposta a esta crítica, Freeman e King<sup>29</sup> referiram que poderão surgir resultados contraditórios de laboratórios diferentes devido à utilização de modificações normalizadas insuficientes do procedimento original de Park.<sup>1</sup>

Os factores técnicos referidos por afectarem os resultados no teste de NBT são os seguintes:

1. Duração e temperatura à qual o sangue é armazenado antes do ensaio.<sup>9,10</sup>
2. Duração e temperatura à qual a mistura de sangue e NBT é incubada.<sup>6,9-12,30-34</sup>
3. Concentração de heparina ou NBT.<sup>9,12,31-34</sup>
4. Sangue capilar versus sangue venoso.<sup>35</sup>
5. Plástico versus contacto de vidro revestido com silicone durante a incubação.<sup>34</sup>
6. Experiência do observador.<sup>15,29</sup>
7. Contacto de vidro revestido com silicone versus contacto de vidro sem revestimento de silicone durante o armazenamento ou incubação.<sup>6</sup>
8. Colheita em tubos Vacutainer<sup>®</sup>.<sup>24</sup>
9. Critérios utilizados para a identificação das células como positivas ou negativas.<sup>2,11,26,33,35</sup>
10. Utilização de EDTA como anticoagulante; inibição resultante da resposta do NBT.<sup>3,12</sup>

O efeito inibidor do EDTA é, aparentemente, abolido, caso o teste seja realizado em crostas inflamatórias preparadas a partir de sangue total na presença de Ficol<sup>®</sup>, um polímero de sacarose.<sup>33</sup> Foi referido que o Ficol<sup>®</sup> tem um efeito protector sob a membrana citoplásmica dos leucócitos durante a respectiva incubação com NBT.<sup>36</sup> A utilização de crostas inflamatórias para a concentração de neutrófilos, reduzindo desta forma o tempo de incubação, foi também sugerida por Patterson<sup>37</sup>, entre outros.<sup>20,38</sup>

Devido à necessidade de uma normalização, a Sigma-Aldrich oferece um procedimento de NBT semi-quantitativo, com base numa modificação do método de Feigin et al.<sup>17,34</sup> que deriva do método de referência de Park e respectivos colaboradores.<sup>1</sup>

O teste de NBT foi proposto para auxiliar na:

1. Identificação dos doentes com doença granulomatosa crónica ou estados semelhantes devido a defeitos metabólicos da função dos neutrófilos.<sup>4,6-11,39</sup>
2. Distinção entre os estados febris e/ou leucocitoses de infecção bacteriana dos estados que não têm origem bacteriana.<sup>1,7,17,18</sup>
3. Determinação da resposta à terapêutica com antibióticos.<sup>1,2,7,17-19</sup>
4. Monitorização dos doentes com uma sensibilidade elevada em relação à infecção bacteriana.<sup>7,20</sup>

Para realizar o teste, as amostras de sangue heparinizado são incubadas em conjunto com uma solução tamponada de NBT, em condições cuidadosamente controladas.<sup>1,11,34</sup> Os esfregaços são, em seguida, preparados, corados e examinados microscopicamente para determinar a percentagem de neutrófilos que apresentam depósitos intracitoplásmicos de NBT reduzido (formazan).

Neutrófilos normais + NBT	Não estimulados	Quantidade reduzida de depósitos de formazan <sup>1,2,17-22,40-48</sup>
	Estimulados ( <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i> )	Percentagem elevada de depósitos de formazan <sup>1,3,7,17-20,40-43</sup>
Neutrófilos com defeito metabólico (por exemplo, DGC, etc.) + NBT	Não estimulados	Quantidade reduzida ou ausência de depósitos de formazan <sup>6,7,11,18</sup>
	Estimulados ( <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i> )	Quantidade reduzida ou ausência de depósitos de formazan <sup>6,7,11,18</sup>

## PROCEDIMENTO

### COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

A colheita de sangue só deverá ser realizada nas 2 horas anteriores à realização do teste e nunca antes. Caso não seja imediatamente analisada, a amostra deverá ser conservada no frigorífico.<sup>9,33</sup> Deverá utilizar-se uma seringa de plástico para a punção venosa. Deverá evitar-se a introdução de sucos tecidulares. A agulha é retirada da seringa antes de se expelir cuidadosa e exactamente 1 mL de sangue para um frasco de colheita revestido com silicone, contendo 20 unidades de heparina, N.º de Catálogo 840-20. Misturar cuidadosamente, mas de forma completa, inclinando ligeiramente e “rodando” o frasco durante aproximadamente 30 segundos. Evitar o contacto entre o sangue e a tampa.

### MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

Microscópio com objectiva de imersão em óleo.

Dispositivos de pipetagem para a aplicação exacta dos volumes necessários para o ensaio Banho-maria, 37 °C

Lâminas para microscópio

## NOTAS:

Quando o procedimento é realizado utilizando o reagente com uma amostra de sangue normal, deverá obter-se uma resposta elevada. Caso contrário, o reagente poderá estar deteriorado.

Um esfregaço espesso fornece um maior número de neutrófilos, sendo especialmente importante quando os números relativos e absolutos de neutrófilos são reduzidos, permitindo assim uma numeração mais rápida.

Cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio tempo de coloração ideal.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça um intervalo normal. O sangue de indivíduos normais deverá ser submetido aos dois procedimentos descritos para servir de controlo com cada série de testes realizada. Se o sistema de reagentes estiver a funcionar de forma satisfatória, o número de células que contêm formazan irá ultrapassar o valor normal após a estimulação do controlo com o extracto bacteriano.

A resposta quantitativa de indivíduos clinicamente saudáveis obtidas com o teste de NBT estimulado varia consideravelmente,<sup>2,3</sup> dificultando a sua interpretação. No entanto, os valores do teste de NBT irão normalmente registar um aumento de 10 a 50 % de células positivas adicionais, devido à presença de diversos estimulantes.<sup>2,3,8,24</sup> Por exemplo, é possível prever que uma amostra não estimulada com um resultado de 10 % de células positivas poderá apresentar um resultado de 20 a 60 % de células positivas após a estimulação. A utilização de estimulante, N.º de Catálogo 840-15, conforme descrito anteriormente, deverá resultar numa resposta elevada no sangue de indivíduos saudáveis.

Têm existido situações, em que foram referidos valores elevados quando o sangue total é substituído na mistura de reacção por líquido cerebrospinal de casos de meningite bacteriana,<sup>44</sup> ou líquido sinovial de casos de artrite pirogénica.<sup>53</sup> A utilização outros de fluidos corporais além do sangue total ainda não foi completamente avaliada e, nesta altura, ainda não é possível oferecer qualquer tipo de parecer relativamente à sua utilização com os reagentes fornecidos.

Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

## PROCEDIMENTO:

### Sem estimulação:

É possível realizar um teste de NBT estimulado (tratamento do sangue com extracto bacteriano) como um controlo positivo em conjunto com, ou subsequentemente a, este teste de NBT não estimulado para detectar os defeitos metabólicos da função dos neutrófilos. O teste de NBT estimulado também é descrito.

### Incubação da amostra e preparação dos esfregaços:

- Utilizando uma pipeta de plástico, transferir 0,12 mL de solução de NBT para um frasco, N.º de Catálogo 840-50.
- Adicionar 0,2 mL de sangue heparinizado devidamente misturado. Misturar cuidadosamente, mas de forma completa, inclinando ligeiramente e “rodando” o frasco. Não inverter o frasco. Tapar bem.
- Incubar a 37 °C durante 10 minutos. Retirar e deixar assentar, à temperatura ambiente (18–26 °C), durante mais 10 minutos.
- Misturar novamente a mistura de sangue heparinizado com NBT, “rodando” suavemente.
- Com uma pipeta de plástico, transferir 50 a 75 µL da mistura para uma lâmina de vidro limpa.  
**NOTA:** É necessário prestar especial atenção para minimizar quaisquer danos nos glóbulos brancos durante a preparação do esfregaço.
- Preparar um esfregaço moderadamente espesso para reduzir os danos mecânicos nas células que contêm formazan, que ficam mais frágeis.<sup>6,34</sup> Deixar secar ao ar.
- Proceder ao tratamento do esfregaço com corante de Wright ACCUSTAIN, N.º de Catálogo WS 10, da seguinte forma:
  - Imergir o esfregaço seco em 1 mL de corante durante 15 segundos.
  - Ao esfregaço imerso adicionar 1 mL de água destilada e deixar assentar durante 30 segundos (um período de tempo mais longo poderá aumentar a intensidade da coloração).
  - Passar o esfregaço por água, escoar e secar ou deixar secar ao ar.

### Com estimulação:

Este procedimento pode ser realizado em simultâneo com o, ou subsequentemente ao, teste de NBT não estimulado como uma forma possível para auxiliar a detecção de defeitos metabólicos da função dos neutrófilos (consultar a secção “Utilização Prevista”).

### Incubação da amostra e preparação dos esfregaços:

- Transferir 0,1 mL de solução de NBT para um frasco, N.º de Catálogo 840-50.
- Utilizando uma pipeta de plástico, adicionar 0,05 mL de sangue heparinizado e 5 µL de solução estimulante. Misturar cuidadosamente, mas de forma completa, inclinando ligeiramente e “rodando” o frasco. Tapar bem.
- Continuar de acordo com os Passos 3 a 7 descritos em “Procedimento (Sem estimulação)” e continuar conforme a secção “Exame microscópico e contagem”.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Os valores do teste são apresentados em termos de percentagem de neutrófilos positivos (contendo formazan).

### Exame microscópico e contagem:

Observar o esfregaço corado, utilizando uma objectiva de imersão em óleo e proceder à contagem de 100 ou mais neutrófilos. Registar como positivos os neutrófilos que apresentarem depósitos de formazan. Estes neutrófilos poderão aparecer difusivamente granulares, mas irão ocorrer predominantemente como inclusões intracitoplasmáticas de grande dimensão, de forma irregular, com uma cor púrpura escura a preta. Na contagem

dos neutrófilos como positivos, recomenda-se que as estipulações definidas por Feigin<sup>24</sup> sejam seguidas. Nomeadamente:

- O neutrófilo deverá estar completo, com a membrana celular intacta.
- O neutrófilo deverá estar isolado, sem estar em contacto com qualquer outra célula ou material celular (à excepção de glóbulos vermelhos). Os neutrófilos incluídos em aglutinações de leucócitos ou plaquetas não deverão ser contabilizados.
- De modo a que seja considerado positivo, o neutrófilo deverá conter depósitos de formazan sob a forma de massas discretas, irregulares e de grande dimensão.
- Em seguida, regista-se a percentagem positiva de 100 ou mais neutrófilos contabilizados.

**NOTA:** Apenas os neutrófilos devem ser contados. Também poderão existir depósitos de formazan em monócitos ou em aglutinações de plaquetas.<sup>1-3,51,52</sup> Como uma forma de clarificação adicional, é possível proceder à determinação da percentagem de neutrófilos positivos para o NBT em simultâneo com um diferencial e contagem total de glóbulos brancos, permitindo o cálculo do número absoluto de células positivas. Feigin e os seus colaboradores<sup>17</sup> utilizaram uma percentagem de neutrófilos positivos para o NBT e um número absoluto de neutrófilos positivos para o NBT para desenvolver um nomograma para uma classificação experimental dos doentes. No entanto, não é possível recomendar a utilização do seu nomograma publicado, a menos que a exactidão da sua aplicação possa ser demonstrada no nosso laboratório.

### VALORES ESPERADOS

Intervalo normal <sup>17</sup>	2–17 %	Células positivas
Média	9 %	Células positivas

A maioria dos investigadores<sup>1-3,14,18,20,22,40-48,53-55</sup> referiram os valores medianos para indivíduos clinicamente saudáveis como sendo 10 %, ou menos, neutrófilos positivos (contendo formazan), embora algumas amostras possam apresentar valores tão elevados como 17 %.<sup>17</sup> A maioria dos observadores concorda<sup>1,2,17-21,40-42</sup> que a percentagem de neutrófilos positivos é, normalmente, mais elevada na presença de infecção bacteriana, desde que os leucócitos sejam metabolicamente normais. Paterson e Matula<sup>2</sup> descobriram que todos os doentes com bacteremia apresentam valores elevados no teste de NBT.

### Os valores normais ou baixos na ausência de infecção bacteriana são referidos nos casos de:

- Doenças virais<sup>1,2,7,17</sup>
- Artrite reumatóide<sup>1,5,53</sup>
- Embolia pulmonar<sup>13</sup>
- Doentes submetidos a um transplante de tecido<sup>2,7</sup>
- Cancro<sup>2,18</sup>
- Mulheres na fase pós-parto<sup>7,47</sup>
- Doentes na fase pós-operatória<sup>7</sup>
- Outros estados febris (ou com leucocitose) que não tenham origem bacteriana<sup>1,2,7,15,18</sup>

### Os valores normais ou reduzidos na presença de infecção bacteriana são referidos nos casos de:

- Infecções localizadas<sup>7,13,53,56</sup> (Estudos realizados in vitro indicam que a resposta dos neutrófilos necessita que o estimulante tenha uma concentração adequada<sup>2</sup>)
- A administração de corticosteróides, fenilbutazona e agentes imunossuppressores<sup>43,47,49,54</sup>
- A terapêutica com antibióticos onde a eficácia pode ser indicada por uma redução da percentagem positiva, por vezes é inferior a 6 horas<sup>18</sup>
- Tuberculose primária<sup>7,13</sup>
- Defeitos metabólicos da função dos neutrófilos, como por exemplo:
  - Doença granulomatosa crónica<sup>4,7,8,11,42,49</sup>
  - Insuficiências neurofílicas de mieloperoxidase<sup>57</sup> ou glucose-6-fosfato desidrogenase<sup>50</sup>
  - Agamaglobulinemia congénita ou adquirida<sup>7</sup>
  - Lupus eritematoso sistémico<sup>1,2,5,18</sup>
  - Estados de patologia caracterizados por complexos antigénio-anticorpo<sup>15</sup>
  - Histiocitose de lipocromos<sup>7</sup>
  - Leucemia mielóide crónica<sup>43,44</sup>
  - Kwashiorkor<sup>39</sup>
  - Diabetes<sup>58</sup>
  - Infecções opressivas<sup>22,27,54,57</sup>

### Os valores elevados são referidos nos casos de:

- Infecções bacterianas<sup>1-3,7,13,17-21,33,40-42,53,55,57,58</sup>
- Infecções por Nocardia ou outras doenças fúngicas sistémicas<sup>1,2,57</sup>
- Diversas infecções parasitárias, incluindo a malária<sup>2,40,41,48</sup>
- Tuberculose miliar<sup>7,13</sup>
- Meningite tubercular<sup>7,13</sup>

### Os valores elevados na ausência de infecção bacteriana são referidos nos casos de:

- Bebés normais com menos de dois meses de idade (também recém-nascidos e prematuros)<sup>7,35,42,55,59</sup>
- Gravidez<sup>46</sup>
- Síndrome de Chekiak-Higashi<sup>60</sup>
- Mielofibrose idiopática<sup>15,43</sup>
- Osteogénese imperfeita<sup>21</sup>
- Hemofilia<sup>21</sup>
- Doença de Hodgkin ou outros linfomas<sup>47,61</sup>
- Síndrome de Behcet<sup>62</sup>
- Doença inflamatória do intestino<sup>14</sup>
- Imunização tífóide/paratífóide (no espaço de algumas horas)<sup>13,33,60</sup>
- Terapêutica de estreptocinase<sup>22</sup>
- Meningite viral<sup>54</sup>
- Hepatite viral<sup>63</sup>
- Após a diálise<sup>20</sup>
- Doentes que estão a tomar contraceptivos orais<sup>64</sup> (alguns relatórios indicam que os contraceptivos orais não têm qualquer efeito)<sup>45,46</sup>
- Enfarte do miocárdio<sup>65</sup>

Foram realizados estudos de reprodutibilidade pelo mesmo tecnólogo com amostras de sangue de 25 doentes, utilizando o método descrito. Os resultados em duplicado, expressos sob a forma de percentagem de células de NBT positivas, variaram entre 2 e 90 %. A utilização do método estatístico de mínimos quadrados resultou num coeficiente de correlação de 0,9834 entre os valores duplicados.

Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

## 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 cytocentrifuge 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, Solbert 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. Soonattrakul 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 é uma marca comercial registada da Becton, Dickson and Company  
Ficoll é uma marca comercial registada da Pharmacia

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º 840  
Revisão Anterior: 2003-10  
Revisto: 2010-06



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse  
Egham TW20 9BD Reino Unido

### SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EUA +1 314 771 5765  
Assistência Técnica: chamada paga no destino +1 314 771 3122  
ou endereço de correio electrónico: [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Para encomendar: chamada paga no destino +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH  
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Alemanha 49-7329-970