NITROBLAU TETRAZOLIUM (NBT) REDUKTION

(Verfahren Nr. 840)

VERWENDUNGSZWECK

Für den histochemischen Nachweis der intrazytoplasmatischen NBT-Reduktion in neutrophilen Zellen zur Identifizierung neutrophiler Funktionsstörungen und/oder Unterscheidung pyrogener Infektionen.[2] Die NBT-Färbereagenzien dienen der „In-vitro-Diagnostik".

Park und seine Mitarbeiter[1] waren die ersten, die den Nitroblautetrazolium (NBT)-Neutrophilen-Reduktionstest als diagnostisches Mittel zur Unterscheidung von durch Bakterien verursachtem Fieber und Fieber nicht bakteriellen Ursprungs einsetzten. Zum Test gehörte eine Inkubation von Blut mit einer gepufferten NBT-Lösung. Es werden Abstriche vorbereitet, gefärbt und unter dem Mikroskop untersucht, um den Prozentsatz neutrophiler Zellen mit intrazytoplasmatischen Formazanablagerungen zu bestimmen. Bei bakteriellen Infektionen ist dieser Prozentsatz für gewöhnlich erhöht.

Einige Krankheiten, besonders diejenigen mit metabolischen Funktionsstörungen der neutrophilen Zellen, weisen niedrige oder normale NBT-Testwerte auf, selbst bei einer aktiven bakteriellen Infektion. Diese Krankheiten können mit einer Modifizierung des NBT-Tests nachgewiesen werden, der eine *In-vitro*-Stimulation des Phagozytensystems miteinschließt. Diese Stimulation kann durch Hinzugabe von Bakterienkulturfiltrat,[2,3] Latexpartikeln,[4,5] Zymosan,[6] Endotoxin,[7-9] Glaskontakt,[6] oder hohe Heparinkonzentrationen[9-12] zum Blut-NBT-Inkubationsgemisch erreicht werden. Die In-vitro-Stimulation von Blut von normalen Personen ohne zelluläre oder humorale Schädigungen und ohne Störungen des granulozytären Metabolismus weisen einen höheren Prozentsatz formazanhaltiger neutrophiler Zellen auf. Zellen von Patienten mit solchen Schädigungen (z.B. chronische granulomatöse Sepsis, CGD) weisen keine positive Reaktion auf, nicht einmal bei einer Stimulierung.[4,6,8,11]

Es erschienen zahlreiche Arbeiten[2,4,7,13-27], die die ursprüngliche Behauptung[1] der diagnostischen Bedeutung dieses Tests entweder bestätigten oder verneinten. In einer Übersicht des aktuellen Stands des NBT-Tests in der klinischen Diagnostik meint Segal[28], dass der Test bei der Diagnose pyrogener Infektionen von geringem Wert sei. Als Reaktion auf diese Kritik weisen Freeman und King[29] darauf hin, dass die widersprüchlichen Ergebnisse der unterschiedlichen Labors auf schlecht standardisierte Methoden des ursprünglichen Verfahrens nach Park[1] zurückzuführen sind.

Zu den technischen Faktoren, die die Ergebnisse des NBT-Tests beeinflussen können, gehören:

1. Dauer und Temperatur, bei der das Blut vor dem Test aufbewahrt wird.[9,10]
2. Dauer und Temperatur, bei der das Blut-NBT-Gemisch inkubiert wird.[6,9-12,30-34]
3. Heparin- oder NBT-Konzentration.[6,9-12,31-34]
4. Kapilläres versus venöses Blut.[35]
5. Kunststoff- versus Silikonglas-Kontakt während der Inkubation.[34]
6. Erfahrung des Testers.[15,29]
7. Silikon- versus Nicht-Silikonglas-Kontakt während der Aufbewahrung oder Inkubation.[6]
8. Probennahme in Vacutainer® Röhrchen.[24]
9. Angewandte Kriterien zur Bestimmung positiver und negativer Zellen.[2,11,26,33,35]
10. Verwendung von EDTA als Antikoagulans; daraus folgende Inhibition der NBT-Reaktion.[3,12]

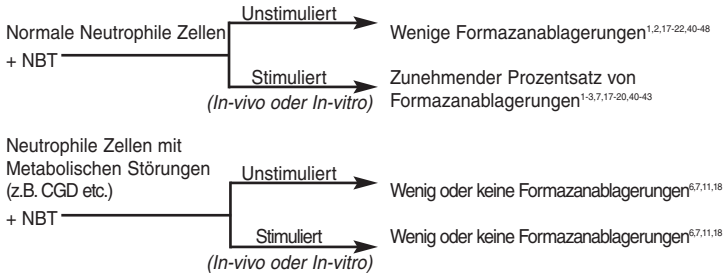
Die inhibitorische Wirkung der EDTA kann anscheinend vermieden werden, wenn der Test auf Leukozytenmanschettenpräparaten durchgeführt wird, die aus Vollblut in Gegenwart von Ficoll®, einem Saccharosepolymer, [33] zubereitet werden. Von Ficoll® wird gesagt, dass es während der Inkubation mit NBT eine schützende Wirkung auf die zytoplasmatische Membran der Leukozyten ausübt.[36] Patterson[37] und andere[20,38] schlugen ebenfalls die Verwendung von Leukozytenmanschettenpräparaten vor, um die neutrophilen Zellen zu konzentrieren und dadurch die Auszählungszeit zu verkürzen.

Aufgrund des Standardisierungsbedarfs bietet Sigma-Aldrich ein semiquantitatives NBT-Verfahren an, das auf einer Modifizierung der Methode von Feigin et al.[17,34] beruht, die von der Referenzmethode von Park und Mitarbeitern[1] abgeleitet wurde.

Der NBT-Test wurde als Hilfsmittel vorgeschlagen:

1. Zur Identifizierung von Patienten mit chronischer granulomatöser Sepsis oder ähnlichen Krankheiten aufgrund metabolischer Funktionsstörungen neutrophiler Zellen.[4-6,11,39]
2. Zur Unterscheidung zwischen Fieberzuständen und/oder Leukozytosen durch bakterielle Infektionen und Krankheiten nicht-bakteriellen Ursprungs.[1,7,17,18]
3. Zur Bestimmung der Reaktion auf Antibiotikatherapie.[1,2,7,17-19]
4. Zur Überwachung von Patienten mit hoher Anfälligkeit für bakterielle Infekte.[7,20]

Zur Testdurchführung werden heparinisierte Blutproben mit einer gepufferten NBT-Lösung unter sorgfältig überwachten Bedingungen inkubiert.[1,11,34] Es werden dann Abstriche zubereitet, gefärbt und unter dem Mikroskop untersucht, um den Prozentsatz neutrophiler Zellen zu bestimmen, die intrazytoplasmatische Ablagerungen von reduziertem NBT (Formazan) aufweisen.



Die Durchführung eines „stimulierten" Verfahrens kann sich bei der Aufdeckung eines intrinsischen Defekts neutrophiler Zellen als hilfreich erweisen.[4,6,7,11,18,42,49,50]

REAGENZIEN

NBT-FLÄSCHCHEN, Bestell-Nr. 840-10
Nitroblautetrazolium, 1 mg, gefriergetrocknet, mit Phosphatpuffer und Natriumchlorid.

HEPARIN, NATRIUMSALZ, Bestell-Nr. 840-20
Silikonisierte Glasfläschchen mit Heparin (Schwein), 20 Stück, zur Entnahme von 1 ml Vollblut.

FLÄSCHCHEN, GLAS, MIT DECKEL, Bestell-Nr. 840-50
Silikonisierte Fläschchen zum Inkubieren der Proben.

ACCUSTAIN® WRIGHT-FARBSTOFF, Bestell-Nr. WS 10
Wright-Farbstoff, 0,3 %, gepuffert bei pH 6,8, in Methanol.

STIMULANS, Bestell-Nr. 840-15
Bakterienextrakte (nicht lebensfähig), gefriergetrocknet.

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

NBT-Fläschchen im Dunkeln im Kühlschrank bei (2–8 °C) aufbewahren. Stimulans im Kühlschrank bei (2–8 °C) aufbewahren. Heparin und Fläschchen bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren.

ACCUSTAIN Wright-Farbstoff bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren. Bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

VORBEREITUNG:

Die NBT-LÖSUNG wird durch Rekonstitution eines NBT-Fläschchens, Bestell-Nr. 840-10, mit 1,0 ml destilliertem Wasser zubereitet. Einige Minuten stehen lassen, dann kräftig mischen. Das aufgelöste Fläschchen ist 1 Tag stabil, wenn es im Kühlschrank (2–8 °C) gelagert wird.

Die STIMULANS-LÖSUNG wird durch Rekonstitution des Stimulans, Bestell-Nr. 840-15, mit 1,5 ml destilliertem Wasser zubereitet. Zum Auflösen schütteln. Unter 0 °C aufbewahren. Die Lösung kann mehrmals eingefroren und aufgetaut werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

US-Gefahren- und Sicherheitsangaben

NBT Fläschchen. Vorsicht: Nicht einatmen und Kontakt vermeiden.

Heparinfläschchen. Vorsicht: Nicht einatmen und Kontakt vermeiden. Zielorgan: Blut

Stimulans. Vorsicht: Substanz noch nicht vollständig geprüft

Wright-Färbelösung ist ENTZÜNDLICH und TOXISCH. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen und Haut. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Behälter dicht geschlossen halten. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben (Vorsicht: Substanzen sind noch nicht vollständig geprüft)

NBT Fläschchen. Kontakt mit Augen und Haut vermeiden. Staub nicht einatmen.

Stimulans. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Wright-Färbelösung ist HOCHENTZÜNDLICH und TOXISCH. Hochentzündlich. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Behälter dicht geschlossen halten. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.

VERFAHREN

PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probennahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Blut sollte nicht mehr als 2 Stunden vor Durchführung des Tests entnommen werden. Falls die Probe nicht unmittelbar getestet wird, sollte sie im Kühlschrank aufbewahrt werden.[9,33] Zur Venenpunktion wird eine Kunststoffspritze verwendet. Das Einbringen von Gewebeflüssigkeit ist zu vermeiden. Die Nadel wird von der Spritze abgenommen, bevor genau 1 ml Blut sorgfältig in ein silikonisiertes Sammelröhrchen mit 20 Einheiten Heparin, Bestell-Nr. 840-20, gegeben wird. Sorgfältig, aber gründlich mischen, indem das Fläschchen 30 Sekunden leicht gekippt und „gerollt" wird. Kontakt zwischen Blut und Deckel vermeiden.

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN:

Mikroskop mit Ölimmersionsobjektiv.
Pipetten zum genauen Abmessen der für diesen Test erforderlichen Volumina.
Wasserbad, 37 °C
Mikroskop-Objektträger

HINWEISE:

Wenn das Verfahren unter Verwendung des Reagenz mit einer normalen Blutprobe durchgeführt wird, sollte eine erhöhte Reaktion erzielt werden. Ist das nicht der Fall, könnte das Reagenz verfallen sein.

Ein dicker Abstrich weist mehr neutrophile Zellen auf, besonders wichtig bei einer niedrigen relativen und absoluten Zahl neutrophiler Zellen, was eine schnellere Auszählung ermöglicht.

Jedes Labor sollte seine eigene optimale Färbezeit bestimmen.

Es wird empfohlen, dass jedes Labor einen Normalbereich definiert. Blut von normalen Individuen sollte bei beiden beschriebenen Verfahren als Kontrolle mit jeder Testserie getestet werden. Falls das Reagenzsystem befriedigend funktioniert, wird die Anzahl formazanhaltiger Zellen nach der Stimulierung der Kontrolle mit dem Bakterienextrakt über den Normalbereich ansteigen.

Die quantitative Reaktion des stimulierten NBT-Tests klinisch gesunder Personen weist beträchtliche Unterschiede auf[2,3], was die Auswertung erschwert. Die NBT-Testwerte werden jedoch normalerweise aufgrund der Anwesenheit verschiedener Stimulanzien um weitere 10-50 % positiver Zellen erhöht.[2,3,9,24] Beispielsweise wird eine unstimulierte Probe, die 10 % positive Zellen aufweist, nach einer Stimulierung 20 bis 60 % positive Zellen ergeben. Die Verwendung des Stimulans, Bestell-Nr. 840-15, wie oben beschrieben, sollte in Blut von gesunden Individuen eine erhöhte Reaktion erzielen.

Es wurden erhöhte Werte gemeldet, wenn Vollblut im Reaktionsgemisch durch Rückenmarkflüssigkeit von Patienten mit bakterieller Meningitis[44] oder durch Synovialflüssigkeit von Patienten mit pyrogener Arthritis ersetzt wurde.[53] Die Verwendung anderer Körperflüssigkeiten als Vollblut wurde noch nicht vollständig untersucht, und zu diesem Zeitpunkt kann keine Beurteilung über die Verwendung mit den angebotenen Reagenzien abgegeben werden.

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

VERFAHREN:

Unstimuliert:

Ein stimulierter NBT-Test (Behandlung des Bluts mit Bakterienextrakten) kann als Positivkontrolle gemeinsam mit oder anschließend an diesen unstimulierten NBT-Test durchgeführt werden, um metabolische Funktionsstörungen neutrophiler Zellen nachzuweisen. Der stimulierte NBT-Test wird ebenfalls beschrieben.

Inkubation der Probe und Vorbereitung der Abstriche:

1. Mit einer Plastikpipette 0,12 ml NBT-Lösung in ein Fläschchen, Bestell-Nr. 840-50, übertragen.
2. 0,2 ml gut gemischtes heparinisiertes Blut hinzufügen. Behutsam, aber gründlich mischen, indem das Fläschchen leicht gekippt und „gerollt“ wird. Das Fläschchen nicht umdrehen. Fest verschließen.
3. Bei 37 °C 10 Minuten inkubieren. Herausnehmen und bei Raumtemperatur (18–26 °C) weitere 10 Minuten stehen lassen.
4. Das heparinisierte Blut-NBT-Gemisch erneut durch behutsames „Rollen“ mischen.
5. Mit einer Kunststoffpipette 50–75 µl des Gemischs auf einen sauberen Glasobjektträger auftragen.
   HINWEISE: Während der Vorbereitung der Abstriche muss darauf geachtet werden, dass mechanische Beschädigungen der weißen Blutzellen möglichst gering gehalten werden.
6. Einen Abstrich von mittlerer Dicke vorbereiten, um mechanische Beschädigungen der formazanhaltigen Zellen zu reduzieren, die empfindlicher werden.[6,34] Den Abstrich an der Luft trocknen lassen.
7. Den Abstrich mit ACCUSTAIN Wright-Farbstoff, Bestell-Nr. WS 10, wie folgt behandeln:
   a. Den trockenen Abstrich mit 1 ml Farbstoff 15 Sekunden überschwemmen.
   b. Dem überschwemmten Abstrich 1 ml destilliertes Wasser zugeben und 30 Sekunden stehen lassen (längere Zeiten verstärken die Farbintensität).
   c. Den Abstrich mit Wasser spülen, das Wasser ablaufen lassen und trockentupfen oder an der Luft trocknen lassen.

Stimuliert:

Dieses Verfahren kann gleichzeitig mit oder anschließend an den unstimulierten NBT-Test als mögliches Hilfsmittel zum Nachweis metabolischer Funktionsstörungen neutrophiler Zellen (siehe Abschnitt „Verwendungszweck“) durchgeführt werden.

Inkubation der Probe und Vorbereitung der Abstriche:

1. 0,1 ml NBT-Lösung in ein Fläschchen, Bestell-Nr. 840-50, übertragen.
2. Mit einer Kunststoffpipette 0,05 ml heparinisiertes Blut und 5 µl Stimulanslösung zugeben. Behutsam, aber gründlich mischen, indem das Fläschchen leicht gekippt und „gerollt“ wird. Fest verschließen.
3. Mit den Schritten 3 bis 7 wie unter „Verfahren (Unstimuliert)“ fortfahren und mit dem Abschnitt „Mikroskopische Untersuchung und Zählung“ weiterfahren.

LEISTUNGSMERKMALE

Testergebnisse werden als Prozentsatz positiver (formazanhaltiger) neutrophiler Zellen angegeben.

Mikroskopische Untersuchung und Zählung:

Den gefärbten Abstrich mit dem Ölimmersionsobjektiv scannen und 100 oder mehr neutrophile Zellen zählen. Als positive neutrophile Zellen werden Zellen mit Formazanablagerungen registriert. Diese können gelegentlich als diffus granulär erscheinen; erscheinen jedoch hauptsächlich als großer, unregelmäßiger, dunkelvioletter bis schwarzer intrazytoplasmatischer Einschluss. Wenn die neutrophilen Zellen als positiv gezählt werden, wird empfohlen, die von Feigin[34] aufgestellten Bedingungen zu befolgen. Zu diesen Bedingungen gehören:

1. Die neutrophile Zelle muss ganz sein, mit einer intakten Zellmembran.
2. Die neutrophile Zelle muss eine Einzelzelle sein, ohne Kontakt zu anderen Zellen oder Zellmaterial (außer roten Blutzellen). Neutrophile Zellen in Klumpen aus Leukozyten oder Thrombozyten sollten nicht gezählt werden.
3. Um als positiv eingestuft zu werden, muss die neutrophile Zelle Formazanablagerungen in Form großer, unregelmäßiger, einzelner Massen enthalten.
4. Es wird dann der Prozentsatz positiver Zellen von 100 oder mehr neutrophilen Zellen notiert.

HINWEIS: Es werden nur neutrophile Zellen gezählt. Formazanablagerungen können auch in Monozyten oder in Thrombozytenklumpen auftreten.[1-3,51,52] Als weitere Verfeinerung kann die Bestimmung der prozentualen NBT-positiven neutrophilen Zellen gleichzeitig mit einer Zählung aller weißen Blutzellen und dem Differentialblutbild durchgeführt werden, um die Berechnung der absoluten Anzahl positiver Zellen zu ermöglichen. Feigin und Mitarbeiter[17] benutzten die prozentuale Anzahl NBT-positiver und die absolute Anzahl NBT-positiver neutrophiler Zellen, um ein Nomogramm für eine vorläufige Patientenklassifizierung zu erstellen. Die Verwendung dieses publizierten Nomogramms wird jedoch nicht empfohlen, außer wenn Ihr Labor es exakt anwenden kann.

REFERENZWERTE

Normalbereich[17]	2-17 %	Positive Zellen
Mittelwert	9 %	Positive Zellen

Die meisten Forscher [1-3,14,18,20-22,40-48,53-55] geben Mittelwerte für klinisch gesunde Personen von 10 % oder weniger positiven (formazanhaltigen) neutrophilen Zellen an, obwohl einige Proben Werte von 17 % aufweisen.[17] Die meisten Beobachter sind sich einig[1,2,17-21,40-42], dass der Prozentsatz positiver neutrophiler Zellen bei einer bakteriellen Infektion ansteigt, sofern die Leukozyten metabolisch normal sind. Paterson und Matula[2] fanden heraus, dass alle Patienten mit einer Bakteriämie erhöhte NBT-Testwerte aufweisen.

Bei den folgenden Befunden werden normale oder niedrige Werte bei Abwesenheit einer bakteriellen Infektion berichtet:

- Viruserkrankungen[1,2,7,17]
- Rheumatoide Arthritis[1,5,53]
- Lungenembolie[13]
- Patienten mit Gewebetransplantationen[2,7]
- Krebs[2,18]
- Postpartale Frauen[7,47]
- Postoperative Patienten[7]
- Andere Fieberzustände (oder Befunde mit Leukozytose) nicht-bakterieller Herkunft[1,2,7,15,18]

Bei den folgenden Befunden werden normale oder niedrige Werte bei Vorhandensein einer bakteriellen Infektion berichtet:

- Lokalisierte Infektionen[7,13,53,56] (In-vitro-Studien zeigen, dass die Reaktion neutrophiler Zellen einen Stimulus ausreichender Stärke verlangt[2])
- Verabreichung von Corticosteroiden, Phenylbutazon und Immunosupressiva[43,47,49,54]
- Antibiotikabehandlungen, deren Wirksamkeit anhand eines reduzierten positiven Prozentsatz gemessen wird, manchmal in weniger als 6 Stunden[18]
- Primärtuberkulose[7,13]
- Metabolische Funktionsstörungen neutrophiler Zellen wie:
  - Chronisch granulomatöse Sepsis[4,7,8,11,42,49]
  - Neutrophiler Mangel an Myeloperoxidase[57] oder Glucose-6-Phosphatdehydrogenase[50]
  - Angeborene oder erworbene Agammaglobulinämie[7]
  - Systemischer Lupus erythematodes[1,2,5,18]
  - Krankheitsbilder, die durch Immunkomplexe gekennzeichnet werden[15]
  - Lipochrome Histiozytose[7]
  - Chronische myeloische Leukämie[43,44]
  - Kwashiorkor[39]
  - Diabetes[58]
  - Systemische Infektionen[22,27,54,57]

Erhöhte Werte wurden berichtet bei:

- Bakteriellen Infektionen[1-3,7,13,17-21,33,40-42,53,55,57,58]
- Nocardia-Infektionen oder anderen systemischen Pilzerkrankungen[1,2,57]
- Verschiedene Parasitenerkrankungen, u.a. Malaria[2,40,41,48]
- Miliartuberkulose[7,13]
- Tuberkulöse Meningitis[7,13]

Erhöhte Werte bei Abwesenheit einer bakteriellen Infektion wurden berichtet bei:

- Gesunden Kindern, jünger als zwei Monate (auch Neugeborene und Frühgeborene)[7,35,42,55,59]
- Schwangerschaft [46]
- Chekiak-Higashi-Syndrom[60]
- Idiopathische Myelofibrose[15,43]
- Osteogenesis imperfecta[21]
- Hämophilie[21]
- M. Hodgkins oder andere Lymphome[47,61]
- Behcet-Syndrom[62]
- Entzündliche Darmerkrankung[14]
- Typhus-/Paratyphusimmunisierung (innerhalb weniger Stunden)[13,33,60]
- Streptokinasebehandlung[22]
- Virale Meningitis[54]
- Virale Hepatitis[63]
- Nach der Dialyse[20]
- Patienten, die orale Kontrazeptiva einnehmen[64] (einigen Berichten zufolge haben orale Kontrazeptiva keinen Einfluss)[45,46]
- Myokardinfarkt[65]

Der gleiche Technologe führte Studien zur Reproduzierbarkeit mit Blut von 25 Patienten unter Anwendung des beschriebenen Verfahrens durch. Duplikat-Resultate, ausgedrückt in Prozent positiver NBT-Zellen, lagen bei 2–90 %. Die Anwendung der statistischen Methode der kleinsten Quadrate führte zu einem Korrelationskoeffizienten von 0,9834 zwischen den Duplikaten.

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

LITERATURANGABEN

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 spectrophometric 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, Solber CO: Influence of anticoagulants on the nitrobluetetrazolium 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 – Flase-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-ne-gative 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. Chretein 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 ist ein eingetragenes Warenzeichen von Becton, Dickson and Company.
Ficoll ist ein eingetragenes Warenzeichen von Pharmacia.

Sigma-Aldrich, Inc. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. 840
Vorherige Ausgabe: 2003-02
Revidiert: 2003-10

CE EC REP AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD Großbritannien

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103USA +1 314 771 5765
Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122
oder Email an clintech@sial.com
Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970