

23. Segal A. W., Lewi A. W. — Clin. Sci., 1973, v. 45, p. 817—826.
24. Pilgrim U., Gindrot J. J., Buckley et al. — Schweiz. med. Wschr., 1974, Bd 104, S. 147.
25. Hellum R. B. — Scand. J. infect. Dis., 1977, v. 9, p. 269—276.
26. Нагоев Б. С. — В кн.: Цитохимические и биохимические исследования в эксперименте и клинике. Нальчик, 1979, вып. 8, с. 112—113.
27. Демин А. А. — Сов. мед., 1976, № 12, с. 16—21.
28. Douwes F. R., Reichel L., Hauswaldt Ch. — Infusionsther. klin. Ernähr., 1977, Bd 4, S. 353—358.
29. Нагоев Б. С., Габрилович И. М. — В кн.: Клинические аспекты инфекционной патологии. Нальчик, 1978, вып. 7, с. 12—14.
30. Hellum R. B., Solberg C. O. — Scand. J. infect. Dis., 1973, v. 5, p. 67—70.
31. Логинский В. Е., Коцай Б. Р., Короткий В. В. — Пробл. гематол., 1978, № 12, с. 46—50.
32. Потапова С. Г., Демидова Н. В., Козинец Г. И. — Там же, 1978, № 9, с. 41—44.
33. Lehane D. E., Watson S. H., Lane M. — Cancer (Philad.), 1975, v. 45, p. 1421—1425.
34. Anner R. M., Nydegger U. E., Meischer P. A. — Ther. Umsch., 1971, Bd 28, S. 601—605.
35. Freeman R., King B. — J. clin. Path., 1972, v. 25, p. 912—914.
36. Neuwitrova R., Setkova O. — New Engl. J. Med., 1973, v. 288, p. 970—972.
37. Segal A. W., Lewi A. W. — Clin. exp. Immunol., 1975, v. 19, p. 309—318.
38. Silverman E. M., Ryden S. E. — Am. J. med. Technol., 1974, v. 40, p. 151—155.
39. Hakim J. — Sém. Hôp. Paris, 1975, v. 51, p. 1713—1718.
40. Шубич М. Г. Цитохимия нейтрофильных лейкоцитов в норме и при некоторых заболеваниях. Автореф. дис. докт. М., 1967.
41. Нагоев Б. С. — Клин. мед., 1973, № 5, с. 45—60.
42. Нагоев Б. С. — Лабор. дело, 1978, № 7, с. 394—398.

Поступила 15.09.80

TEST OF NITROBLUE TETRAZOLIUM REDUCTION IN INVESTIGATION OF LEUCOCYTE FUNCTIONAL ACTIVITY (LITERATURE SURVEY). B. S. Nagoev, M. G. Shubich

A test of nitroblue tetrazolium reduction (NBT-test), as an index of the phagocytic and metabolic activity of neutrophile granulocytes is described. The methodical principles of the NBT-test performance and the values of the test activity in healthy persons and patients with various pathological conditions and diseases of various etiology are presented. The diagnostic value of the NBT-test in identification of systemic bacterial infections, concomitant diseases and complications of the bacterial nature, as well as in differentiation of somatic and infectious diseases of the bacterial and viral etiology is shown. Regular changes in the level of the NBT-test under the effect of anti-

bacterial therapy (antibiotics, sulfanilamides) and various physico-chemical factors are described. Parallelism between the positive reaction of the NBT-test, an increase in the leucocyte phagocytic activity and an increase in the activity of alkaline phosphatase in the leucocytes is demonstrated. Biochemical and cytochemical processes resulting in reduction of the NBT-test are discussed at the cell level in connection with the functional activity of the neutrophile granulocytes.

УДК 616.9-07:616.155.3-074

Ключевые слова: NBT-тест, модификация

Ю. И. Бажора, В. Н. Тимошевский, П. З. Протченко, А. Н. Головченко

УПРОЩЕННЫЙ МЕТОД NBT-ТЕСТА

Кафедры биологии, микробиологии и инфекционных болезней Одесского медицинского института им. Н. И. Пирогова

Предложенный Park и соавт. [1] метод NBT-теста для дифференциальной диагностики бактериальных и небактериальных заболеваний в настоящее время считается одним из наиболее объективных методов оценки функционального состояния нейтрофилов периферической крови человека [2].

Свойство полиморфноядерных лейкоцитов прилипать к стеклу усложняет постановку реакции в массовом масштабе в условиях любой лаборатории. Для предупреждения прилипания и повреждения клеток рекомендуется обрабатывать стеклянные пробирки и часовые стекла силиконом [1, 3, 4], что требует дополнительных затрат времени и не всегда возможно из-за дефицита силикона. Кроме того, в оригинальной методике используется гепаринизированная кровь из вены в объеме нескольких миллилитров. Для преодоления этих затруднений предложены модификации метода Park и соавт. [5, 6], которые, однако, исключают добавление гепарина. В то же время другие авторы считают присутствие гепарина в инкубационной среде обязательным [4, 7]. Учитывая это, предлагаем модифицировать метод путем упрощения некоторых этапов подготовки и проведения теста.

Для взятия крови и постановки реакции восстановления тетразолиевого красителя используют полистироловые пластинки, применяемые обычно для реакции торможения гемагглютинации. Это исключает необходимость в силикони-



ровании пробирок и часовых стекол. В лунку пластинки вносят 0,1 мл крови обследуемого больного, взятой из палца мерной пипеткой. Предварительно в лунку вносят 0,025 мл раствора гепарина из расчета 20—25 ЕД на 1 мл крови [7]. В эту же лунку добавляют остальные ингредиенты реакции: 0,15 М фосфатный буфер рН 7,2 и 0,2% раствор нитроглубого тетразолия («Reanal», Венгрия) по 0,05 мл каждый. Содержимое лунки тщательно перемешивают пипетированием. Пластинку накрывают фильтровальной бумагой, смоченной физиологическим раствором, и стеклянной пластинкой соответствующих размеров. Стеклянную пластинку прижимают пружинными зажимами. Таким образом, в каждой лунке создаются условия влажной камеры и отпадает необходимость переносить реактивную смесь на часовые стекла и помещать последние в чашки Петри, которые используются в прототипе как влажные камеры. Инкубацию проводят в термостате при 37 °С в течение 15 мин, затем при комнатной температуре 15 мин. После каждого этапа инкубации содержимое лунок перемешивают путем продувания воздуха через пастеровскую пипетку. Мазки делают осторожно во избежание повреждения лейкоцитов, высушивают на воздухе, фиксируют метанолом, докрасивают метиловым зеленым и микрокопируют под масляной иммерсией. Подсчитывают 200 нейтрофилов и оценивают процент NBT-позитивных клеток (нейтрофилов, содержащих хорошо выраженные, окрашенные в темно-синий цвет, гранулы формазана).

Полученные при использовании модифицированного метода как средние величины, так и пределы колебаний соответствуют данным других авторов [8—10], которые использовали метод Park и соавт. (см. таблицу).

Полученные данные удовлетворяют основное требование к NBT-тесту, т. е. позволяют дифференцировать заболевания бактериальной и небактериальной этиологии. При определении воспроизводимости результатов с использованием нашей модификации коэффициент вариации у здоровых людей составлял 9,2 %, а у больных — 6,6%, что не превышает допустимый предел [11].

Таким образом, предлагаемая модификация не изменяет условий протекания реакции. Контрольные результаты не отличаются от данных авторов, исполь-

Показатели NBT-теста у здоровых людей, по данным различных авторов, использовавших метод Park и соавт.

Авторы	Число обследованных	% NBT-положительных клеток в периферической крови
Park и соавт.	30	8,5 (3—10)
Zaboklicki и Zeman	30	8,9±2,23
Sychlowy	24	7,7±3,5
Kaufman	22	7,8
Собственные данные: контроль (здоровые доноры)	30	7,2±1,2
больные (ангины фолликулярные, лакунарные)	52	29,7±2,07

зовавших оригинальный метод. В то же время модификация имеет следующие преимущества. Уменьшает количество необходимой для исследования крови и облегчает ее взятие, упрощаются этапы подготовки и постановки реакции, что дает значительную экономию времени. В лунках одной пластинки можно поставить реакцию с кровью большого количества обследуемых, что позволяет использовать модификацию в широкой клинической практике.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Park B. H., Fikrig S. M., Smithwick E. M. — *Lancet*, 1968, v. 2, p. 532—534.
2. Клиническая иммунология. Доклад группы экспертов ВОЗ. М., 1976.
3. Демин А. А. — *Сов. мед.*, 1976, № 12, с. 16—22.
4. Шубич М. Г., Медникова В. Г. — *Лаб. дело*, 1978, № 9, с. 515—517.
5. Gifford R. H., Malawista S. E. — *J. Lab. clin. Med.*, 1970, v. 75, p. 511.
6. Войткевич К. А. — *Лаб. дело*, 1977, № 3, с. 147—148.
7. Mela G. S., Dallegrì F., Patrone F. et al. — *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1977, v. 53, p. 46—49.
8. Zaboklicki S., Zeman K. — *Pol. Tyg. lek.*, 1976, v. 31, p. 1321—1324.
9. Sychlowy A. — *Pediat. pol.*, 1973, v. 48, p. 35—37.
10. Kaufman H. S. — *Lancet*, 1971, v. 2, p. 1262.
11. Делекторская Л. Н., Меньшиков В. В. — *Лаб. дело*, 1976, № 9, с. 556—562.

Поступила 07.12.79

#### MODIFICATION OF NBT-TEST.

Yu. I. Bazhara, V. N. Timoshevsky, P. Z. Protchenko, A. N. Golouchenko

A modification of the NBT-test on polystyrene plates with cavities is described. The modification excludes the use of siliconated



glass which makes much simpler the manipulations. The results of the tests are compared with those of examination of patients with bacterial angina, and the literature data. The significance of the results, reproducibility and simplicity of the procedure permits its recommendation for practical use.

УДК 616.24-002-07:616.155.3-008.1-072.7

Ключевые слова: лейкоциты, фагоцитоз, выявление активности

Т. К. Бумагина, Е. И. Шмелев

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АКТИВИРОВАННОГО НСТ-ТЕСТА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РАССТРОЙСТВ ФАГОЦИТОЗА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ

Центральный НИИ гематологии и переливания крови, Москва

Функцию нейтрофилов в антимикробной защите организма нередко оценивают по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) внутри клеток [1]. Интенсивность реакции, как правило, отражает полноценность функции клеток, а ее угнетение часто возникает при подавлении фагоцитоза при метаболическом дефекте нейтрофилов [2—4].

Наблюдения свидетельствуют, что диагностические возможности спонтанного восстановления НСТ (спонтанный НСТ-тест) в периоде ремиссии хронических бактериальных воспалительных процессов ограничены, поэтому применение теста с искусственным активированием фагоцитоза *in vitro* (активированный НСТ-тест) увеличивает диагностическую ценность исследования, особенно в периоде ремиссии хронических воспалительных процессов [1].

Среди множества возможных активаторов *in vitro* ряд авторов отдают предпочтение латексу [5, 6], поскольку он отличается стандартными размерами частицы и ее биологической инертностью. Оценку результатов активированного латексом НСТ-теста проводят либо спектрофотометрически [6], либо с помощью световой микроскопии [5].

Цель настоящего исследования состоит в изучении диагностической ценности НСТ-теста с латексом у больных воспалительными заболеваниями органов дыхания. Отметим, что подобные исследования в литературе не описаны.

*Материал и методы.* Обследовали 76 больных с неспецифическими заболе-

ваниями легких и 36 здоровых лиц. Одновременно ставили спонтанный НСТ-тест по Park и соавт. и тест с активированным латексом НСТ [5] в нашей модификации.

Кровь из локтевой вены брали в силиконированную пробирку с 10 ЕД/мл гепарина, центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин, готовили лейкоконцентрат. 100 мкл лейкоконцентрата добавляли в пробирку, содержащую 50 мкл 0,2% раствора НСТ и 50 мкл взвеси латекса (0,8 мкм— $1 \cdot 10^6$  в 1 мкл), инкубировали смесь 30 мин при 37 °С, периодически встряхивая. Готовили мазки, фиксировали метанолом, окрашивали 1—2 мин 0,5% раствором сафранина, определяли число формазан-положительных клеток на 100—200 нейтрофилов.

При обследовании 36 здоровых лиц получены результаты, принятые условно за норму: по спонтанному НСТ-тесту —  $6,51 \pm 0,28\%$  с диапазоном колебаний 4,0—9,0% (1,5%); по активированному НСТ-тесту —  $60,0 \pm 1,9\%$  с диапазоном колебаний 45—75% (1,5%). Среди больных, разделенных на 5 клинических групп, было 6 человек с острой пневмонией, 19 — с хронической, 17 — с абсцессами легких, 34 страдали инфекционно-аллергической бронхиальной астмой, 12 из них постоянно получали глюкокортикоидные гормоны. Больные обследованы в остром периоде заболевания, в процессе лечения и ко времени выздоровления или улучшения состояния.

Основные результаты представлены в таблице, из которой видно, что при острой пневмонии наблюдалось повышение показателей спонтанного НСТ-теста, нормализовавшихся при выздоровлении ( $P < 0,05$ ). Показатели активированного НСТ-теста в периоде острых явлений и при выздоровлении оставались в пределах нормы, однако средние их величины при выздоровлении снижались ( $P < 0,05$ ).

У больных хронической пневмонией нередко выявляли подавление спонтанного и активированного НСТ-тестов: в остром периоде у 3 больных выявили подавление спонтанного НСТ-теста, у 5 — активированного. У остальных 4 больных отмечено угнетение обоих тестов.

У больных инфекционно-аллергической бронхиальной астмой, не получавших гормональную терапию, показатели как спонтанного, так и активированно-