

## 整形外科 領域에 있어서의 Nitroblue Tetrazolium 色素還元検査法の 診斷的 價値 및 意義

國立醫療院

朴炳守\* · 朴莊圭\* · 趙德衍\* · 金基容\* · 趙明俊\*\*

### —Abstract—

#### The Diagnostic Value of the Nitroblue Tetrazolium Dye Reduction Test in Orthopaedic Field

Park, Byoung-Soo, M.D., Park, Jang-Kyu, M.D.

Cho, Duck-Yun, M.D., Kim, Key-Yong, M.D.

*Department of Orthopaedic Surgery, National Medical Center.*

Cho, Myoung-Jun, M.D.

*Department of Clinical Biochemistry, National Medical Center.*

Nitroblue tetrazolium dye reduction test is now widely used for early detection of bacterial infection.

Practically nitroblue tetrazolium dye reduction test (N.B.T. test) gives certain clue to rule out any possibility of aseptic inflammation.

Authors performed N.B.T. test for 80 orthopaedic diseases and 40 controls, and the results were as followings:

1. Forty-one of 60 subjects with bacterial infection had more than 10% formazan positive neutrophils, and 18 of 20 subjects without bacterial infection showed less than 10% formazan positive neutrophils. The groups of the elevated N.B.T. responses were mainly the subjects who had osteomyelitis, soft tissue inflammation, pyogenic arthritis, and bone and joint tuberculosis.
2. The mean proportion of N.B.T. positive neutrophils was  $3.8 \pm 2.78\%$  in 40 controls,  $4.7 \pm 4.23\%$  in 20 noninfectious group,  $12.7 \pm 10.3\%$  in 12 chronic osteomyelitis,  $12.5 \pm 10.7\%$  in 15 treated bone and joint tuberculosis,  $20.9 \pm 15.65\%$  in 15 untreated bone and joint tuberculosis and  $20 \pm 10.70\%$  in 11 pyogenic arthritis and 7 other soft inflammatory group.
3. In noninfectious group, 7 of 8 subjects with elevated ESR and 3 of 4 subjects with elevated body temperature revealed N.B.T. responses less than 10%.
4. In 23 subjects with the elevated N.B.T. responses as well as leucocytosis, 22 subjects were the groups of bacterial infection and rest 1 was noninfectious in nature.
5. Therefore, the N.B.T. test is found to be useful for the purposes of the early diagnostic

\* 整形外科

\*\* 臨床生化學科

## 緒 論

細菌感染에 의한 疾病經過는 때에 따라서는 아주 急進的이어서 數日 사이에 組織의 相當한 變化를 超來할 뿐만 아니라 그로 因해 甚한 後遺症이 남게되거나 生命까지 威脅을 하게 된다. 따라서 時間을 다투어 細菌感染 如否를 確診한다는 것은 보다 큰 意義를 갖게 된다.

診斷方法으로 各種血液檢查, 大小便의 培養檢查 및 X-線檢查로 感染疾患에 對한 正確한 診斷이 不可能한 것만은 아니나 이는 長時間을 要하며, 臨床의 症狀이나 白血球數의 增加, X-線所見等만으로는 確實한 鑑別診斷을 할 수가 없을 때가 있다. 그러므로 細菌性 感染疾患의 早期診斷은 治療面에 뿐 아니라 그 後의 經過에 對하여도 重要하며 特히 非細菌性 感染疾患과의 鑑別診斷은 時急히 要求된다. Park 등<sup>7)</sup> (1968)은 生體의 末梢血液을 採取하여 特殊染色法을 加한 뒤 喰細胞를 N.B.T. 陽性球과 陰性球로 區分하고 研究分析해본 結果 細菌性 感染疾患群에 있어서는 N.B.T. 陽性球가 非細菌性 感染疾患群에 비해 顯著히 增加되어 있는 것을 發見하였다.

그 以後 N.B.T. 色素還元檢查法은 많은 論難을 거듭하면서 여러 學者들에 의해 研究報告되어 왔고 細菌性 感染疾患群의 早期診斷에 있어 相當한 도움을 주는 檢查方法으로 認定되어 왔다.

發熱, 血沈速度 및 白血球數의 增加 등은 非特異性인 것으로서 細菌感染이 아닌 다른 境遇에도 흔히 볼 수 있어서 細菌感染의 診斷에 決定的인 도움을 줄 수는 없다.

이러한 點을 考慮하여 著者等은 近來 國立醫療院 整形外科에 入院治療한 各種疾患 患者 80名을 對象으로 Park 등<sup>7)</sup>에 의한 N.B.T. 檢查法으로 얻은 成績과 同患者들의 白血球數의 增減, 發熱狀態, 赤血球沈降速度等과의 關係를 研究分析하여 文獻 考察과 아울러 報告한다.

## 檢查材料 및 方法

### A. 檢查對象

1975年 4月부터 10월까지 滿 7個月間 國立醫療院 整形外科에 入院하였던 患者中 다른 疾患이 合併되지 않았던 骨關節結核 30例, 化膿性 骨髓炎 12例, 化膿性 關

節炎 11例, 軟部組織感染 및 其他 組織感染 7例, 非感染性 疾患 20例, 合計 80例를 抽出하고 對照群으로 健康人 40名을 選定하여 同一한 N.B.T. 檢查, 白血球數, 血沈速度 및 體溫을 測定하였다.

### B. 檢查方法

#### 1. N.B.T. 色素溶液

結晶體의 N.B.T. 染料를 生理食鹽水에 混合한 0.2%의 N.B.T. 溶液을 phosphate buffered saline (PH 7.2)과 混合하여 檢查에 使用하였다.

#### 2. N.B.T. 檢查法

被檢者의 靜脈血 1ml를 採取하여 75單位의 Heparin 溶液이 包含된 試驗管에 넣고 靜脈血과 Heparin 溶液이 잘 混合되게 몇 번 上下左右로 흔들어서 그 中 0.1ml를 採取하여, N.B.T. 試驗溶液 0.1ml가 들어 있는 siliconized microconcave slide 에 넣고 잘 混合한 後 젖은 gauze 가 담긴 petri dish 안에 놓는다. 이것을 37°C에서 30分間 incubation 하고 다시 室溫에 15分間 放置해 둔 後 microconcave slide 위의 上澄液을 capillary pipette 으로 除去하고 血球層을 選擇하여 조심스럽게 slide glass 위에 얇게 밀어 말린 後 Wright 氏 染色法으로 염색을 하여 oil emulsion lens 下에서 細胞를 計算하였다.

#### 3. N.B.T. 檢查의 計算法

細胞質內에 黑青色의 formazan 으로 還元된 沈澱物을 가진 中性白血球를 N.B.T. 陽性球로 判讀했으며 中性白血球 100個를 헤아리는 동안 이 N.B.T. 陽性球가 나타나는 數를 N.B.T. 陽性 百分率로 表示하였다.

單核白血球와 血小板에서 黑青色의 formazan 이 나타나는데 이것은 計算에서 除外하였고 두개의 中性白血球가 하나의 formazan 을 含有했을 때는 하나의 N.B.T. 陽性細胞로 取扱하였다 (Fig. 1.2.).

#### 4. 白血球, 血沈速度 및 體溫測定

末梢血液 白血球數와 體溫測定은 通常의 方法에 依하였으며 血沈速度는 Westergren 法에 依하여 實施했다.

## 檢 查 成 績

健康人 40名의 對照群中 N.B.T. 陽性球數의 百分率의 平均値는  $3.8 \pm 2.78\%$  이었고 그 範圍는 1—12% 였다. 檢查群 80例에서 非感染性 疾患群은 閉鎖性骨折 9例,

有意한 差를 볼 수 없었다( $P>0.05$ , Tab. 1).

相當期間의 抗結核劑 投與 및 手術의 加療를 했던 骨關節結核群 15例에서는 N.B.T. 陽性球數의 百分率이  $12.5\pm 10.7\%$ 이었고 그 範圍는 2—35%로 對照群과 比較할때 相當한 增加를 보여 주어 有意한 差를 나타내었다( $P<0.01$ , Tab. 1).

結核治療의 經驗이 없었거나 있어도 期間이 짧았던 骨關節結核群 15例에 있어서는 N.B.T. 陽性球數의 百分率이  $20.9\pm 15.65\%$ 이었고 그 範圍는 2—56%로 對照群과 比較할 때 顯著한 增加를 보여 주어 有意한 差를 나타내었다( $P<0.01$ , Tab. 1).

慢性骨髓炎 12例에 있어서는 N.B.T. 陽性球數의 百分率이  $12.7\pm 10.3\%$ 이었고 그 範圍는 4—44%이었으며 對照群에 비해 相當한 增加를 보여 주어 역시 有意한 差를 나타내었다( $P<0.01$ , Tab. 1).

化膿性關節炎 11例, 軟部組織感染 2例, 其他 二次의 細菌感染(開放性骨折 3例, 挫減創 1例, 原因不明의 脊椎炎 1例)이 있었던 其他疾患 5例를 포함한 總 18例에 있어서는 N.B.T. 陽性球數의 百分率이  $20\pm 10.70\%$ 이었고 그 範圍는 6—43%로 對照群에 비해 顯著한 增加를 보여 주어 역시 有意한 差를 나타내었다( $P<0.001$ , Tab. 1).

檢査群에서 赤血球 沈降速度 및 N.B.T. 陽性球數와 의 關係를 보면 檢査群 80例中 57例에서 血沈速度의 增加가 있었고, 이 中 49例는 細菌感染에 依한 것이었고, 8例는 非細菌感染에 依한 境遇였다. 細菌感染에 依한 血沈速度의 增加 49例中 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 있었던 例는 35例(71.4%)였고, 14例에서는 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 없었다. 反面 8例의 非感染性疾患群은 7例에서 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 없었고, 1例에서만 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 있었다. 즉 非感染疾患群 8例에 있어서는 赤血球 沈降速度

Fig. 1. Two N.B.T. positive neutrophils with dense blue black deposits of formazan. (X1000, emulsion oil)

Fig. 2. A large number of N.B.T. positive neutrophils. (X100)

關節脫臼, 裂創, 切斷創 및 腫瘍이 各各 2例, 電氣火傷, 류마치스性關節炎, 脊椎間板核脫出症이 各各 1例로서 總 20例에서 N.B.T. 陽性球數의 百分率의 平均値가  $4.7\pm 4.23\%$ 로 그 範圍는 1—12%이었다. 이것은 對照群에 비해 輕微한 增加를 보여 주어 對照群과 比較하면

Table 1. Percentage of N.B.T. positive neutrophils

Group	No.	N.B.T. (+) % (M±S.D.)	P value	Number of subjects more than 10% of N.B.T.(+) neutrophils
Controls	40	$3.8\pm 2.78$		3
Non-infections	20	$4.7\pm 4.23$	$>0.05$	2
Bacterial infections	60	$16.9\pm 12.45$	$<0.01$	41
Bone & joint Tbc, treated	15	$12.5\pm 10.7$	$<0.01$	9
Bone & joint Tbc. untreated	15	$20.9\pm 15.65$	$<0.01$	8
Chronic osteomyelitis	12	$12.7\pm 10.3$	$<0.01$	9
Pyogenic arthritis and other inflammatory group	18	$20\pm 10.70$	$<0.001$	15

Table 2. Relationship between N.B.T. and ESR, WBC and Body Temperature

Group	No	WBC increased		WBC normal		ESR increased		ESR normal		Fever (+)		Fever (-)	
		N.B.T. ↑	N.B.T. ⊗	N.B.T. ↑	N.B.T. ⊗	N.B.T. ↑	N.B.T. ⊗	N.B.T. ↑	N.B.T. ⊗	N.B.T. ↑	N.B.T. ⊗	N.B.T. ↑	N.B.T. ⊗
Non-infections	20	1	1	1	17	1	7	1	11	1	3	1	15
Bone & joint Tbc, treated	15	2	2	7	4	5	4	4	2	1	2	8	4
Bone & joint Tbc, untreated	15	4	2	4	5	7	6	1	1	2	2	6	5
Chronic osteomyelitis	12	4	1	5	2	9	1	0	2	0	0	9	3
Pyogenic arthritis	11	7	2	2	0	9	2	0	0	6	1	3	1
Soft tissue inflammation	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0
Other inflammation	5	3	1	1	0	3	1	1	0	2	1	2	0

N.B.T. ↑: number of subjects more than 10% of N.B.T. (+) neutrophils.

N.B.T. ⊗: number of subjects less than 10% of N.B.T. (+) neutrophils.

가 증가함에도 불구하고 大部分의 境遇에서 N.B.T. 陽性球數의 增加는 볼 수 없었다(Tab. 1).

對照群을 除外한 檢査群 80例中 白血球數의 增加는 32例에서 볼 수 있었고 이中 23例(70.9%)에서 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 있었는데 22例가 細菌性 感染疾患이었다(Tab. 2).

또한 檢査群 80例中 發熱이 있었던 23例는 14例(61.0%)에서 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 있었는데, 이中 13例가 細菌性 感染疾患이었고 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 없었던 9例(39.0%)中 6例만이 細菌性 感染疾患이어서 發熱이 있으면서도 非感染疾患群에 있어서는 N.B.T. 陽性球數의 增加를 大部分 볼 수 없었다(Tab. 2).

### 考 按

Park<sup>9)</sup> (1971)은 N.B.T. 檢査의 小兒疾病에 對한 適用의 報告에서 白血球는 外界로부터 感染이 있을때 生體內에서 喰菌作用을 함으로써 N.B.T. 色素의 還元作用과 細胞의 代謝性變化를 同伴하게된다고 하였고, 또한 이러한 喰菌細胞의 細胞質에 黑青色의 formazan을 形成함으로써 나타나는 N.B.T. 色素의 還元은 確實한 機轉은 알려져 있지 않으나 다음과 같은 두가지의 結果를 發見할 수 있었다 한다.

첫째, 喰菌作用에 參加한 喰菌細胞의 細胞膜에 어떠한 變形을 볼 수 있었는데 N.B.T. 色素는 變形되지 않은 完全한 細胞膜은 通過할 수 없기 때문이다.

둘째, pyridine nucleotide에서 나온 Hydrogen ion을 傳達하여 N.B.T. 色素를 還元시키는 enzyme인 N.B.T. diaphorase가 細胞質의 granule에 位置하는 것을 볼 수 있었다. 즉 formazan을 形成하자면 細胞膜의 變形과 N.B.T. diaphorase의 放出이 있어야 하므로 이러한 變化는 細菌이나 Latex 粒子의 喰菌에 依해 招來된다고 하였다.

그는 또한, Endotoxin이나 staphylococcal protein A 또는 streptolysin O가 循環血에 注入되었을 때 역시 N.B.T. 色素의 還元이 增加되는 것으로 보아 N.B.T. 色素의 還元은 어떤 細菌性產物이나 細菌構成物質에 依해 招來되는 것이 아닌가 라고도 생각하였다.

이러한 考按에서 Park<sup>9)</sup> 등은 發熱이나 白血球增多症을 가진 非細菌性 感染疾患과 細菌性 感染疾患에 N.B.T. 檢査法을 適用하여 分析檢討한 結果 細菌性 感染疾患에서 N.B.T. 陽性球의 絶對的 數와 그 百分率이 顯著히 增加된 것을 發見하고 이의 鑑別診斷에 早期的으

로 사용할 수 있음을示唆하였다. 그以後 N.B.T. 色素還元檢査法은 여러學者들에 의해 다시 分析檢討되어 細菌性 感染疾患과 다른 疾患의 鑑別診斷에 意義가 있는 것으로 判定되어졌다.<sup>1, 3, 4, 5)</sup>

Park<sup>9)</sup>은 또한 N.B.T. 檢査法이 診斷的 補助檢査로 使用될 때는 個體의 喰菌活動이 正常的으로 作用해야 하고 또한 感染이 全身循環을 侵犯해야한다는 두개의 假定이 必要하다고 하였다.

Holmes 등<sup>8, 9)</sup>은 生後 2個月 以下の 新生兒에서는 白血球의 抗進된 代謝活動때문에 N.B.T. 檢査結果가 偽陽性으로 나타날 수 있다고 하였고, Park, Holmes 및 Rodey 등<sup>8, 9, 10)</sup>은 慢性肉牙腫性疾患患者와 같은 個體의 喰菌活動이 正常으로 作用하지 못 할 境遇에는 偽陰性으로 나타날 수도 있다고 하였다.

著者들이 適用했던 對照群 및 檢査群中에는 生後 2個月 以下の 新生兒나 慢性肉牙腫性疾患患者와 같은 個體의 喰菌活動이 正常으로 作用하지 못한 境遇는 없었다.

Feigin 등<sup>3, 4, 7, 8)</sup>은 이 檢査法은 原因菌을 알 수 없고 正確한 感染部位를 알 수 없다는 短點을 가지고 있다고 하였다.

Feigin 및 Park 등<sup>2, 7, 8, 9, 10)</sup>은 또한 N.B.T. 陽性球數의 增加가 있는 細菌性 感染疾患에 있어서 適切한 抗生劑 投與를 할 때 1日 乃至 14日內에 대개 N.B.T. 陽性球數가 正常範圍內로 되돌아 오는 것으로 報告했다. 그러나 適切한 治療에도 不拘하고 臨床的反應이 不良할 때는 이 N.B.T. 陽性球數가 오랫동안 增加된 狀態로 있다고 하였다.

著者들이 適用했던 檢査群에서도 첫째, 骨關節 結核群에 있어서 治療群보다 非治療群이 N.B.T. 陽性球數의 增加가 顯著했고, 둘째, 12例의 慢性骨髓炎患者에서는 入院前 長期間의 抗生劑 投與 및 其他의 加療가 있었음에도 不拘하고 入院後 相當한 N.B.T. 陽性球數의 增加를 보였는데, 이것은 入院前의 治療가 適切치 못하였던 것으로 생각되고, 이러한 慢性骨髓炎患者에 있어서의 N.B.T. 陽性球數 增加는 化膿性關節炎, 其他 組織感染 및 非治療群의 骨關節結核群과 比較할 때 顯著하지 않았는데, 이러한 結果는 Feigin 및 Park 등의 報告와 一致하였다.

이 새로운 檢査法은 操作이 單純하면서도 短時間內에 結果를 얻을 수 있으므로 어떤 疾患의 細菌性 感染如否에 對한 鑑別診斷, 感染의 程度 및 感受性的의 如否, 治療에 對한 效果, 그리고 豫後判定等에 有用하게 使用될 수 있다고 하였다.<sup>1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11)</sup>

著者들의 經驗에서도 非感染疾患群에 있어서는 血沈

速度의 增加나 發熱이 있었음에도 不拘하고 대개의 境遇에서 N.B.T. 陽性球數의 增加는 없었으나, 細菌感染疾患群에 있어서는 白血球數 및 血沈速度의 增加나 發熱의 有無에 關係없이 大多數가 N.B.T. 陽性球數의 增加를 보여주어 非感染疾患群과 細菌感染疾患群에 對한 鑑別診斷이 容易하였다.

## 結 論

著者들은 1975年 4月부터 10월까지 滿 7個月間 國立醫院院 整形外科에 入院하였던 患者 80例를 Park 등에 의한 N.B.T. 檢査法을 適用하여 白血球數, 血沈速度 및 發熱有無와의 關係를 分析檢討하여 아래와 같은 結論을 얻었다.

1. 化膿性關節炎 11例, 軟部組織感染 2例, 其他感染 5例를 包含한 總 18例는  $20 \pm 10.70\%$ 로 對照群( $3.8 \pm 2.78\%$ )과 比較하여 N.B.T. 陽性球數의 顯著的한 增加를 나타내었다.

2. 相當期間 治療를 하였던 骨關節結核群 15例( $12.5 \pm 10.7\%$ )와 結核治療의 經驗이 없었거나 短期間 治療한 事實이 있는 骨關節結核群 15例( $20.9 \pm 15.65\%$ )에서는 對照群에 비해 N.B.T. 陽性球數의 相當한 增加를 나타내었고, 同時に 治療群에 比하여 非治療群에서 顯著的한 增加를 나타내었다.

3. 治療가 不良하였던 慢性骨髓炎 12例( $12.7 \pm 10.3\%$ )에 있어서는 對照群에 비해 N.B.T. 陽性球數의 相當한 增加를 나타내었다.

4. 非感染疾患群 20例( $4.7 \pm 4.23\%$ )는 對照群에 비해 N.B.T. 陽性球數의 增加는 極히 輕微하였다.

5. 白血球數와 N.B.T. 陽性球數의 增加가 同時に 있었던 23例中 22例가 細菌性 感染疾患이었다.

6. 非感染疾患群 20例中 血沈速度의 增加가 있었던 境遇는 8例였고, 發熱이 있었던 境遇는 4例였는데, 이 中 各各 1例에서만 N.B.T. 陽性球數의 增加를 볼 수 있었다.

(手酷해주신 국립의료원 임상생화학과 李喜福 先生님께 感謝를 드린다.)

## REFERENCES

1. 金柄國, 李文鎬: 腸티부스 및 各種感染性疾患에서 末梢血液中性球의 Nitroblue-tetrazolium 色素還元에 關한 研究, 大韓內科學會雜誌, Vol. 16, No. 1, Jan, 1973.

2. 金忠相, 林壽德: 白血球의 貪食作用에 關한 研究.  
大韓兒科學會雜誌, 10:3, 1972.
3. Feigin, R.D., Shackelford, P.G. & Choi, S.C.:  
*Prospective use of the N.B.T. dye test in febrile disorders, J. Pediatrics. 94:3, Dec. 1971.*
4. Feigin, R.D.: *N.B.T. test in the diagnosis of febrile patients, New Eng. J. Med. 285:347, 1971.*
5. Holmes, B., Quie, P.G., Windhorst, D.B. & Good, R.A.: *Fetal granulomatous disease of childhood. An inborn abnormality of phagocytic function. Lancet. 1:225, 1966.*
6. R, Freeman., B, King., and P, Kite.: *Serial nitroblue tetrazolium test in the management of infection, Publication. 27. Oct. 1972.*
7. Park, B.H., Fikrig, S.M., and Smithwick, E.M.: *Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils, Lancet 2:532, 1968.*
8. Park, B.H.: *The use and limitations of the N. B.T. test as a diagnostic aid, J. Pediat. Feb. 1971.*
9. Park, B.H., Holmes, B. and Good, R.A.: *Metabolic activities in leucocytosis of newborn infants, J. Pediat. 76:237, 1970.*
10. Park, B.H., Holmes, B., Rodey, G.E., and Good, R.A.: *Nitroblue tetrazolium test in children with fetal granulomatous disease and newborn infants, Lancet 1:157, 1969.*
11. Park, B.H. & Good, R.A.: *Nitroblue tetrazolium test stimulated, Lancet. 2:616, 1970.*