

유도객담의 유용성

한림대학교 의과대학 호흡기내과

정 기 석

Clinical Application of Induced Sputum

Ki-Suck Jung, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Hallym University, Anyang, Korea

객담은 점액과 세포성분으로 되어 있는데 그 구성을 살펴보면, 기도의 분비선과 배세포로부터의 분비, 혈액성분의 여출, 단백성분의 삼출, 상피세포, 대식세포, 백혈구, 세균 및 그 산출물 등과 같은 다양한 산물들이 혼합된 것이다. 정상인에서 기도분비는 흡입된 외기에 일정한 온도와 습기를 공급하고 이 물을 제거하는 중요한 생리적 기능을 담당한다. 건강한 성인이 하루에 하기도에서 생산하는 분비물의 총량은 100ml 이상이나 생리적인 양의 기도분비물은 무의식중에 삼켜지거나 호흡에 의해 증발하여 없어지므로, 객담의 배출은 대개 호흡기의 이상을 의미한다. 객담 검사는 대부분 자연 배출되는 객담을 채집하여 이용한다. 객담의 배출이 어려운 경우에는 고장성 식염수와 같은 기도자극제를 연무기로 흡입시켜 객담의 생성과 배출을 유도하는 방법을 사용하는데 이를 유도 객담(Induced sputum)이라고 한다.

유도객담은 객담이 없는 환자에서 객담검체를 얻을 수 있다는 장점 외에도, 자연 배출된 객담에 비해 염증세포의 생존율이 높고 편평상피세포의 오염도가 낮다. 하지만 고장성 식염수의 흡입으로 기관지 경련이 나타날 수 있고, 검사 중 폐기능의 측정이 필요하며 시간이 많이 소요된다. 또한 관련 장비와 숙련된 검사자가 필요하며 비용이 많이 드는 단점도 있다. 그럼에도 불구하고 기도 및 폐질환의 진단율을 높일 수 있으므로 적응이 되는 경우에는 적극적으로 시도해야한다. 다만 중증 천식에서는 등장성 생리식염수가 고장성 못지않게 좋은 결과를 낸다는 연구 결과가 있어 심한 기도폐쇄가 있는 환자에서는 우선 생리 식염수를 사용하는 것이 안전하다. 유도객담의 재현성은 매우 좋은 것으로 알려져 있으며 이는 비단 세포성분 뿐만 아니라 액상성분의 분석에도 효과적이라고 알려져 있다¹⁻⁴.

Address for correspondence :

Ki-Suck Jung, M.D.

Pulmonology-Allergy Center, Hallym University Sacred Heart Hospital,

896 Pyunghon-Dong, Dongan-Gu, Anyang, Gyunggi-Do, Korea

Phone : 031-380-3717 Fax : 031-380-3973 E-mail : pulmoks@hallym.ac.kr

여기에서는 객담을 유도하는 방법, 검체의 처리 및 임상적 적용 등에 대해 알아보도록 하겠다.

1. 유도객담 채취 및 처리

유도객담을 모으는 방법은 표 1과 같다. 고장액 식염수를 흡입하면 기도내의 삼투압 차이에 의해 수분이 증가하고 기침이 유발되어 객담 배출이 용이해진다. 검체 채취에 걸리는 시간은 1시간 내외이다. 이 방법으로 검사에 적절한 객담을 성공적으로 받을 수 있는 확률은 80% 이상으로 알려져 있다.

객담이 모아지면 2시간 이내에 처리를 하는 것이 바람직하나 9시간 까지도 보관이 가능하다는 연구도 있다. 객담을 처리할 때는 끈적끈적한 점액질만 분리해서 분석하는 방법과, 타액과 점액질을 가리지 않고 한꺼번에 처리하는 방법이 있는데 두 방법 모두 유용하고 재현성이 있다. 점액만 모으는 것은 침과 섞이지 않은 순수한 하부기도의 분비물이라는 장점이 있으나 시간이 많이 걸리는 단점이 있다. 반면 한꺼번에 처리를 하면 기도 내에 존재하는 분비액의 성상을 정확히 파악할 수 있고 시간이 절약되지만, 타액에 의해 오염되고 희석되는

단점이 있다. 얻어진 객담의 총무게를 재고, 4배 용량의 0.1% dithiothreitol(DTT)을 첨가한 후 30초간 진탕을 한 후 37도에서 15분간 둔다. 다음으로 같은 용량의 phosphate buffered saline(PBS) 용액을 넣고 다시 15초간 섞는다. 진탕액 10 µl을 덜어 혈구계를 이용하여 총 세포 수를 계산하고, 2000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 분리하여 냉동 보관한다. 이 과정에서 남은 세포침전물은 식염수로 재부유하고 세포침사를 한 후 Wright-Giemsa 염색을 한다. 최소한 200개 이상의 비편평상피세포를 관찰한 후 호산구, 호중구, 대식세포, 림프구, 상피세포의 백분율을 구한다. 관찰되는 세포 중 편평상피세포가 30% 이상이면 부적합한 객담으로 판정한다. 유도객담에서 정확한 림프구나 상피세포의 숫자를 파악하기 위해서는 면역조직화학 기법을 써야 할 때도 있다. 반면에 호산구, 대식세포 및 호중구는 일반적인 염색법만으로도 충분히 감별이 가능하다. 객담을 용해시킬 목적으로 사용하는 DTT는 단백질의 S-S bond를 잘라내므로 면역글로부린을 비롯한 단백질의 분석이나 세포 표면 표식자의 발현을 보기위한 연구에서는 그 결과가 달라질 수 있다. 따라서 연구 목적에 따라

표 1. 유도 객담검사 방법

1. 유도 객담에 이용되는 자극제
: 고장성(3-4.5%) 식염수, 프로펠렌 글리콜, 설퍼다이옥사이드
2. 검사방법
 - ① 기저 1초간 노력성 호기량(baseline FEV₁)을 측정한다.
 - ② 진처치로 salbutamol을 흡입 투여한다. (salbutamol MDI 2 puff, 400 µg)
 - ③ 침 및 구강 상피세포의 오염을 막기 위해 물로 입안을 행구고 거즈로 입 안쪽과 혀 등을 닦는다.
 - ④ 4.5% 식염수 15 ml를 5분 동안 연무기를 통해서 흡입시킨다.
 - ⑤ 객담을 뱉어내도록 하고 얼음에 얹은 Petri dish에 모은다.
 - ⑥ 1초간 노력성 호기량을 측정한다.
 - ⑦ ④번으로 돌아가서 다음 과정을 반복한다(4번, 총 20분).
 - ⑧ 1초간 노력성 호기량이 20% 감소할 때까지 또는 총 흡입 시간이 20분이 될 때까지 ④번 부터 ⑦번까지의 과정을 반복한다. (환자가 견디지 못하면 중단한다.)

DTT의 사용 여부를 결정해야 한다. 하지만 DTT는 세포의 형태나 세포의 백분율 계산에는 영향을 미치지 않는다⁵.

유도객담을 모으고 검체를 처리하는 과정이 1-3시간이 걸리고, 또한 검체를 2시간 내에 처리되어야 하는 불편함 때문에 실제로 환자를 대상으로 유도객담검사를 진행하는 데는 어려움이 많다. 이를 극복하기 위해 몇 가지 대안이 제시되었는데, 예를 들면 객담을 균질화시킨후 고정액으로 처리한다든지, 객담세포를 dimethylsulfoxide로 냉동시키거나, 유세포분석기를 이용하는 것 등이 연구되고 있다⁶.

2. 임상적 적용

현재 유도객담을 통해 얻을 수 있는 가장 신뢰할 수 있는 정보는 기도내 존재하는 염증세포의 양적 변화이다. 특히 객담 호산구 백분율은 만성기침이나 기관지천식 환자에서 흔히 보이는 기도의 호산구성 염증반응의 중요한 판단 기준이 된다. 한편 유도객담의 상층액을 이용하여 각종 매개물질을 측정할 수 있는데 이 또한 재현성과 신뢰도가 높다. 유도객담을 통해 얻은 검체는 기관지경을 이용한 검체나 기관지 조직검사상의 염증지표들과 비교적 잘 일치한다. 그러나 유도객담은 기도 내강의 염증세포와 염증 매개물질의 상태를 반영하는 것이므로 기도 점막의 염증 상태를 정확히 반영하는 것은 아니다. 또한 유도객담 상층액을 이용한 검사는 희석효과를 감안해야하는 문제가 있다.

고장성 식염수를 통해 얻어지는 객담은 말단기도가 아닌 중심성 기도에서 더 많이 모아지는 것으로 알려져있다. 유도객담과 기관지폐포세척술(BAL)을 서로 비교한 연구들을 보면 일반적으로 유도객담이 세포 밀도가 더 높고, 중성구 백분율도 더 높다. 특히 유도객담의 중성구와 대식세포는 BAL로 채취한 세포와는 다른 표면표식자를 나타

표 2. 유도객담검사가 유용한 임상질환

기관지천식
만성기침
만성폐쇄성폐질환
알레르기성 비염
감염성 폐질환
호산구성 폐질환
간질성 폐질환
폐이식 후 거부반응

표 3. 정상인에서 유도객담 세포 백분율

세포 백분율(%)	평균	percentile(90th)
대식세포	60.8	86.1
호중구	36.7	64.4
호산구	0.00	1.10
림프구	0.50	2.60
기도상피세포	0.30	4.40
methachromatic cell	0.00	0.04

내어 두 방법에 의해 채취되는 세포들은 서로 다른 부위에서 채취되었음을 보여 준다. 또한 유도객담의 상층액에는 폐포보다 기도내에 많이 존재하는 것으로 알려진 ECP와 알부민의 농도가 높다. 이와 같은 연구들은 유도객담이 말단 기도가 아니라 주로 중심성 기도에서 주로 채취됨을 확인해주는 것이다. 하지만 검사시간이 경과함에 따라 점차 하부기도에서도 세포와 분비물이 채집된다. 유도객담 검사를 임상에 이용할 수 있는 질환은 표 2와 같다.

(1) 객담내 염증세포의 분석

한 연구에 의하면 정상인의 유도객담은 대식세포 60.8%, 호중구 36.7%, 림프구 0.5%, 기도상피세포 0.3%, 호산구 0%가 평균이라고 보고 되었다. (표 3) 이를 기준으로 기도 염증의 존재 여부, 염증의 종류 및 강도 등에 대한 해석을 할 수 있다^{7,8}. 객담내 호산구 백분율은 이견이 있기는 하나 3%를 초과하는 경우에 기도내 호산구성 염증반응이 있

는 것으로 간주한다. 호중구는 처음부터 객담에서 다수를 차지하고 있지만 유도객담검사 종료 후 6 시간부터 24시간에 이를 때까지는 호중구 숫자가 더욱 증가하므로 반복 검사를 할 때는 적어도 24 시간이 지난 후에 시행하도록 한다. 한편 유도객담을 채취하는 과정 중에도 초기에는 호중구와 점액이 많지만 검사가 진행됨에 따라 말초기도에서 객담이 채취되어 호중구와 점액은 점차 줄어들고 대식세포와 계면활성제의 성분이 증가하게 된다. 따라서 객담을 분석할 때 검사시간에 따른 차이도 감안해야 한다⁹. 기관지천식환자에서 기도염증의 측정은 가장 정확한 방법인 기도점막 조직검사를 비롯하여 유도객담검사, 기관지세척, BAL, 경기관지 폐생검, 증상 설문조사, 폐기능측정, 기도과민성 검사, 말초혈액 검사 등의 여러 가지 검사법이 있다. 이들 중 조직검사를 제외하고는 어느 지표도 기도의 염증을 정확히 반영하지는 못한다^{10,11}.

■ 호산구

유도객담으로 가장 확실하게 유용성이 증명된 것은 객담내 호산구 백분율이다. 객담내 호산구는 한 개인의 상태에 따라서도 변화하지만 각 개인 간에도 차이가 심하다. 따라서 천식의 중증도가 유사하고 객담 내 호산구의 백분율이 동일한 환자들이라도 동일한 집단으로 간주하면 판단에 오류가 생길 수 있다. 유도객담 내 호산구는 기관지천식을 진단 하는데 있어 혈중 호산구나 ECP 농도, 호기내 일산화질소 농도측정 보다 더 유용하다고 알려져 있다. 또 천식이 치료될 때의 상태를 잘 반영하고, 악화 시에도 매우 예민한 지표로 알려져 있다.

유도객담의 호산구 백분율을 기준으로 흡입 스테로이드 투여량을 결정하는 것이 천식 발작의 예방과 입원 방지에 효과적이라는 보고도 있다. 잘 치료되지 않는 천식환자에서 스테로이드를 사용하고 있는데도 불구하고 객담에서 호산구가 지속적으로 검출되면 스테로이드의 용량이 부족한지 또

표 4. 객담내 호산구가 증가하는 질환

기관지천식
호산구성 기관지염
만성호산구성 폐렴
호산구과다 증후군
기생충 감염
약제과민성
Churg-Strauss 증후군
알레르기성 비염
Allergic bronchopulmonary aspergillosis

는 환자가 약을 제대로 사용하고 있는지를 먼저 검토해야 한다. 그러나 기관지천식에서 기도염증의 정도는 호산구수보다는 호산구 활성화 정도와 더 밀접한 관련이 있다는 연구도 있다¹². 천식환자의 객담에서는 호산구 뿐만 아니라 호산구의 산물인 Charcot-Leyden crystal을 관찰할 수 있다. 점액이 농축된 Curschmann's spiral과 기도상피세포가 뭉쳐서 보이는 creola body 등은 기관지천식 뿐만 아니라 만성폐쇄성 폐질환에서도 관찰된다.

호산구성 기관지염은 객담내 호산구의 존재가 진단에 필수적인 질환으로 만성기침이 있으면서 폐기능은 정상 범위이고, 가역적 기도수축의 소견과 기관지과민성이 없으며, 객담 호산구 백분율이 3%를 넘을 때 진단 한다. 객담내 호산구가 증가하는 질환은 표 4과 같다^{13,14}.

■ 호중구

COPD 환자의 기도염증은 호중구, 림프구 및 대식세포와 관련이 있다. 이들 중 객담에서 변화를 감지할 수 있는 것은 주로 호중구이다. 흡연력이 없는 COPD 환자의 약 50%에서 유도객담내 호중구가 70.1%로 증가된 소견을 보였다¹⁵. 호중구가 객담 내에서 증가해 있으면 기도 및 폐 감염, 기관지 확장증, 흡연, 오존과 같은 대기오염에 노출, 내독소 흡입 등이 원인이 될 수 있다. 또 천식 중에서도 악화 시에 호중구가 증가하는 경우가 있고, 스테로이드 저항성 천식이나 TDI나 곡물에 의한 직

업성 천식에서도 객담에서 호산구 대신 호중구가 증가한다. 한편 객담 호중구가 증가한 천식 환자들의 일부에서는 천식이 아닐 가능성, 다른 감염성 질환의 동반 등도 고려해야 한다. 한편 유도객담의 호중구 증가는 폐 이식 후 거부반응의 감시에 유용하다는 보고도 있다¹⁶.

■ 기타 세포

호산구나 호중구 만큼 진단적 유용성이 증명되지는 않았지만, 객담내에서 림프구가 증가해 있다면 유육종증이나 Chlamydia pneumoniae에 의한 감염을 고려해야 한다. 한편 유도객담에서 관찰되는 lipid laden macrophage는 위식도역류의 진단에 90%의 감수성과 89%의 특이도를 보일 정도로 매우 유용한 소견이라는 보고가 있다. 또 hemosiderin laden macrophage는 폐포출혈의 증거인데 특히 좌심실부전을 반영할 수 있다고 알려져 있다^{17,18}. Hemosiderin을 함유하는 대식세포가 2% 이상일 때 감수성, 특이도, 양성 예측율은 각각 80%, 94%, 96%로 매우 높다고 한다. 희귀질환이지만 Fabry씨 병에서는 객담에 포함된 기관지 상피세포내의 lamellar inclusion body가 확진의 단서가 된다¹⁹.

간질성 폐질환 중에서 진폐증, 유육종증 및 비육아종성 간질성 폐질환인 특발성 폐섬유화증과 과민성 폐장염 등은 유도객담의 분석이 임상적인 도움이 된다는 보고가 있다. 진폐증에서는 규소, 석면, 경금속 등에 대한 연구가 있으며 드물지만 Crohn씨 병의 폐침범에 대한 보고도 있다. 특히 객담내 림프구의 상승과 CD4/CD8의 증가는 스테로이드 치료에 반응 여부를 예측할 수 있는 중요한 지표가 된다는 점에서 치료 및 예후 판단에 중요하다²⁰⁻²³.

(2) 객담내 염증 매개체 측정

유도객담내의 세포에서는 IL-4, IL-5, IFN- γ 등의

각종 cytokine의 발현을 측정할 수 있고, 상층액에서는 ECP, 알부민, 섬유소원, mucin-like glycoprotein 등을 비롯한 각종 매개체를 측정할 수 있다. 객담 상층액에서는 호산구의 과립단백질인 MBP, ECP, EDN 등도 검출된다. 증상이 있는 천식환자의 객담에는 안정된 상태보다 염증 매개체가 증가하여 있는데, IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8, RANTES, TNF- α , ECP, MMP-9 등이 이에 해당된다²⁴. 유세포분석기를 이용하면 천식환자의 호산구에서 CD11b, ICAM-1, L-selectin, HLA-DR 등의 발현이 증가함을 관찰할 수 있다. 천식 증상이 없는 알레르기성 비염 환자의 코에 알레르겐을 투여했을 때 유도객담의 ECP와 sICAM의 농도가 증가하였는데 이는 상부기도의 알레르기성 염증반응이 하부기도에 영향을 미친다는 것을 시사한다. 유육종증환자의 유도객담 상층액의 TNF- α 농도는 BAL에서 얻은 결과와 유의한 상관관계가 있으며 치료에 대한 반응도를 잘 반영한다는 연구보고도 있다.

(3) 객담내 감염균의 검출

유도객담은 폐결핵의 진단에도 유용하게 쓰인다. 스스로 객담을 잘 뱉을 수만 있다면 진단적 가치는 유도 객담이 우월하지는 않지만, 객담배출이 용이하지 않는 환자들에게는 유도객담이 매우 유용하다. 객담도말 음성이거나 객담을 뱉을 수 없는 환자들의 결핵 진단에는 1회의 유도객담 검사가 기관지내시경만큼 유용하다는 보고가 있고, 유도객담 검사를 반복해서 시행하는 것이 일회에 그치는 것보다 결핵 진단율이 더 높다고 알려져 있다. 한 연구에 의하면 유도객담을 4회 시행하면 결핵의 진단율이 100%에 이른다는 것이다. 유도객담과 BAL을 비교하여도 진단율에 있어 뒤지지 않는 성적을 보였다²⁵⁻²⁷. 그러나 검사과정 중에 전염이나 오염의 위험성 등은 주의해야 한다. 폐포자충폐렴(PCP)은 후천성 면역결핍환자(AIDS)에서는 흔한

질환이다. 유도객담검사를 하면 AIDS가 없는 환자에서 PCP의 검출율은 6% 정도에 지나지 않지만 AIDS 환자에서는 균이 증식된 상태이므로 진단율이 높아진다. PCP의 진단에 유도객담과 BAL을 비교한 성적이 많은데 유도객담은 감수성 94%, 음성 예측도 96%에 이를 정도로 BAL에 비해 뒤지지 않는다는 보고가 있다. 특히 비용대비 효과와 안전성을 고려하면 유도객담 검사를 우선적으로 시행하는 것이 유리하다²⁸. 한편 유도객담은 일반 폐렴의 진단에도 유용하다는 보고가 있어 후속 연구가 기대되는 분야이다. 천식환자에서 유도객담으로 RT-PCR을 시행하여 Influenza 및 Respiratory syncytial virus의 검출율을 높였다는 연구는 향후 감염성 질환의 진단에 유도객담이 유용하리라는 희망이라고 하겠다^{29,30}.

결론적으로 유도객담검사는 기도와 폐의 염증상태를 파악하는데 매우 유용한 검사이다. 다만 유도객담은 기관지내 분비물의 상태를 보는 것이므로 점막의 염증 상태를 정확하게 반영하지는 못한다. 그러나 기도점막 조직검사를 제외하고는 기관지시척, BAL에서도 점막의 염증 상태를 정확히 반영 못하기는 마찬가지이다. 유도객담검사는 검사의 상대적인 간편성과 재현성으로 인해 진행 중인 기도염증을 추적 관찰하는데 유리하다. 특히 기관지내시경을 받지 못하는 환자에서는 유용한 대안이며 또한 기관지내시경을 이용한 각종 검사에 보완적인 검사법으로서의 역할도 있다. 향후 많은 연구가 뒤따르겠지만 현재로서는 유도객담검사는 매우 안전하고 간편하며 높은 신뢰도와 재현성을 가진 유용한 검사법이다.

참 고 문 헌

1. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47:25-9.
2. Fahy JV, Steiger DJ, Liu J, Basbaum CB, Finkbeiner WE, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1126-31.
3. Fahy JV, Steiger DJ, Liu J, Basbaum CB, Finkbeiner WE, Boushey HA. Markers of mucus secretion and DNA levels in induced sputum from healthy and asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1132-7.
4. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:308-17.
5. Kips JC, Peleman RA, Pauwels RA. Methods of examining induced sputum: do differences matter? *Eur Respir J* 1998;11:529-33.
6. Holz O, Kips J, Magnussen H. Update on sputum methodology. *Eur Respir J* 2000;16: 355-9.
7. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:475-8.
8. Lensmar C, Elmberger G, Sandgren P, Skold CM, Eklund A. Leukocyte counts and macrophage phenotypes in induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid from normal subjects. *Eur Respir J* 1998;12:595-600.
9. Nightingale JA, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of repeated sputum induction on cell counts in normal volunteers. *Thorax* 1998; 53:87-90.
10. Silkoff PE. Noninvasive measurement of

- airway inflammation using exhaled nitric oxide and induced sputum. *Clin Chest Med* 2000;21(2):345-60.
11. Spanevello A, Migliori GB, Sharara A, Ballardini L, Bridge P, Pisati P et al. Induced sputum to assess airway inflammation: A study of reproducibility. *Clin Exp Allergy* 1997;27:1138-44.
 12. Puebla MJA, Fiuroa BEG, Rivera JMO. Analysis of induced sputum: A new approach to the study of airway inflammation in asthma. *Invest Allergol Clin Immunol* 1999; 9(2):73-80.
 13. Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1511-7.
 14. Sterk PJ, Hargreave FE, Kips JC, Inman MD, Louis R, Pizzichini MMM, et al. Clinical application of assessment of airway inflammation using induced sputum. *Eur Respir J* 2002;20:40s-43s.
 15. Birring SS, Brightling CE, Bradding P, Entwisle JJ, Vara DD, Grigg J et al. Clinical, radiologic, and induced sputum features of chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers: a descriptive study. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:1078-83.
 16. Beeh KM, Kornmann O, Lill J, Buhl R. Induced sputum cell profiles in lung transplant recipients with or without chronic rejection: correlation with lung function. *Thorax* 2001; 56:557-60.
 17. Leigh R, Sharon RF, Efthimiadis A, Hargreave FE, Kitching AD. Diagnosis of left-ventricular dysfunction from induced sputum examination. *Lancet* 1999;354:833-4.
 18. Parameswaran K, Anvari M, Efthimiadis A, Kamada D, Hargreave FE, Allen CJ. Lipid-laden macrophages in induced sputum are a marker of oropharyngeal reflux and possible gastric aspiration. *Eur Respir J* 2000;16:1119-22.
 19. Jayaram L, Parameswaran K, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts : their usefulness in clinical practice. *Eur Respir J* 2000;16:150-8.
 20. Fireman E, Lerman Y. Possible future of induced sputum in interstitial lung disease. *Eur Respir J* 2000;15:240-2.
 21. Olivieri D, D'Ippolito R, Chetta A. Induced sputum: diagnostic value in interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:411-4.
 22. Lemiere C. Non-invasive assessment of airway inflammation in occupational lung diseases. *Curr Opin Allergy & Clin Immunol* 2002;2:109-14.
 23. Park HS, Jung KS, Kim HY, Nahm DH, Kang KR. Neutrophil activation following TDI bronchial challenge to the airway secretion from subjects with TDI-induced asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1395-401
 24. Konno S, Gonokami Y, Kurokawa M, Kawazu K, Asano K, Okamoto K, et al. Cytokine concentration in sputum of asthmatic patients. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109:73-8.
 25. Al Zahrani K, Al Jahdali H, Poirier L, Rene P, Menzies D. Yield of smear, culture and amplification tests from repeated sputum in-

- duction for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5(9): 855-60.
26. Conde MB, Soares SL, Mello FC, Rezende VM, Almeida LL, Reingold AL et al. Comparison of sputum induction with fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(6):2238-40.
27. Anderson C, Inhaber N, Menzies D. Comparison of sputum induction with fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1570-4.
28. Turner D, Schwarz Y, Yust I. Induced sputum for diagnosing *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV patients: new data, new issues. *Eur Respir J* 2003;21:204-8.
29. Simpson JL, Moric I, Wark PAB, Johnston SL, Gibson PG. Use of induced sputum for the diagnosis of influenza infection in asthma: a comparison of diagnostic techniques. *J Clin Virol* 2003;26:339-46.
30. Bandyopadhyay T, Gerardi DA, Metersky ML. A comparison of induced and expectorated sputum for the microbiological diagnosis of community acquired pneumonia. *Respiration* 2000;67:173-6.
-