

INDUSERT SPUTUM: metode for diagnostikk av lungesykdom

SAMMENDRAG:

Indusert sputum (IS) er en ikke-invasiv metode for å bringe opp biologisk materiale fra de sentrale luftveier. For noen tiår siden ble IS først og fremst brukt til mikrobiologisk diagnostikk (tuberkulose og pneumocystis carinii), mens de siste 10-15 år har anvendelsen og forståelsen for IS innen diagnostikk og terapeutisk monitorering av luftveissykdom (astma, KOLS og kronisk hoste) vært økende.

IS har gjort det mulig å undersøke større populasjoner (> 100) gjentatte ganger og over tid. På denne måten har man oppdagat astmapasienter med ikke-eosinofile eksaserbasjoner, KOLS-pasienter med eosinofil inflammasjon og pasienter med kronisk hoste som hovedsakelig har en eosinofil inflammasjon. Man har også erfart at pasienter med eosinofil inflammasjon i IS responderer godt på lokale og systemiske kortikosteroider.

Det synes som om monitorering av IS hos visse grupper av både astma og KOLS-pasienter, med målsetting å normalisere eosinofile celler, fører til færre eksaserbasjoner og lavere forbruk av inhalasjonssteroider. Dessuten synes en slik monitorering å være økonomisk regningssvarende selv om IS er langt mer ressurskrevende enn PEF- og spirometrioppfølging. Det er antagelig på tide i langt større grad enn til nå å bringe IS ut fra forskningslaboratoriet og inn i klinikken.

KONTAKTADRESS:

Johny Kongerud
Lungemedisinsk avdeling
Oslo universitetssykehus, Rikshospitalet HF
0027 Oslo
johny.kongerud@rikshospitalet.no

JOHNY KONGERUD^{1,2}, LIV INGUNN BJØNER SIKKELAND¹

Sputum har vært en anerkjent metode for diagnostikk av lungesykdom i mange tiår. Men i forskjellige kliniske sammenhenger har metoden hatt sin begrensning da mange pasienter ikke har kunnet levere spontant sputum eller en adekvat prøve. Men induksjon av sputum ved inhalasjon av en aerosol av hypertont saltvann har stort sett løst dette problemet. Induksjon av sputum på denne måten ble introdusert av Bickerman og medarbeidere i 1958 som en metode for diagnostikk av lungekreft (1). Senere ble indusert sputum (IS) benyttet til diagnostikk av tuberkulose og opportunistiske lungeinfeksjoner. Således ble metoden på 80-tallet også benyttet for å diagnostisere Pneumocystis carinii-infeksjon hos HIV-pasienter (2).

På tidlig 1990-tallet ble metoden modifisert av Pin og medarbeidere for å gjøre den mer egnet til bruk i studier av astmatikere (3). Forbedret kvalitet og større mengde av sputum gjorde den til et godt, ikke-invasivt alternativ til bronkoskopi med bronchoalveolar lavage (BAL) og biopsier, og de siste 20 årene har metoden overveiende blitt brukt til å studere sykdommer i luftveiene.

Luftveissykdommene astma og kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) er definert på bakgrunn av typiske symptomer og forstyrrelser i luftveisfysiologien, men dessuten er inflammasjon et anerkjent karakteristiskum for tilstandene. Som diagnostiske verktøy er det først og fremst måling av lungefunksjon ved spirometri og gjentatte målinger av toppstrøms hastighet (PEF) som brukes i klinisk praksis, mens rutinemessig bestemmelse av in-

flammasjon ikke blir utført. I noen tilfeller hender det at måling av bronkial hyperreaktivitet og påvisning av forhøyet nitrogensid i utåndingsluft som surrogatmål på inflammasjon, brukes som en støtte for astmadiagnosen. I differensialdiagnostisk sammenheng, men først og fremst i forskningsøyemed, har bronkiale biopsier og bronkial skyllevæske vært brukt i diagnostikken. Bronkoskopi er imidlertid en ressurskrevende og invasiv undersøkelse som ikke vil være aktuell å bruke rutinemessig i diagnostikk og behandling av pasienter med luftstrømsobstruksjon. Fortsatt er ikke IS en rutineundersøkelse for diagnostikk av luftveissykdom, men celler og mediatorer i IS er godt validert og normalverdier fra store populasjonsstudier er publisert (4).

I denne artikkelen omtaler vi anvendelse og tolkning av sputum ved astma, KOLS og kortfattet i forhold til noen andre tilstander. Dessuten presenterer vi metoden slik vi praktiserer den ved lungeavdelingen på Rikshospitalet og med våre sikkerhetsrutiner ved gjennomføring av testen (se egen ramme side 22/23).

Sikkerhet og suksessrate

I flere studier har IS vært rapportert som en sikker metode som ikke har medført noen alvorlige episoder med bronkokonstriksjon. Forutsetningen er at astmatikere forbehandles med beta2-agonist og at man overvåker alle forsøkspersoner med regelmessig måling av FEV1. Induksjonsprosedyren har blitt rapportert å gi et gjennomsnittlig fall i FEV1 på 5–7% fra utgangsverdien, men med en spredning fra 0–47%. Dette gjelder normale

1 Fakultetsdivisjonen Rikshospitalet, Universitetet i Oslo

2 Lungeavdelingen – Hjerte- og lungeklinikken, Oslo universitetssykehus

og personer med velregulert astma eller mild ubehandlet astma. Sikkerheten ved alvorlig astma er ikke tilstrekkelig dokumentert. Hvis man overveier IS ved alvorlig astma og KOLS-pasienter, bør isotont saltvann foretrekkes som første dose og inhalasjonsperioden reduseres.

Hunter og medarbeider rapporterte at for 100 IS-prosedyrer blant 79 pasienter, hvorav 37 med astma, var det gjennomsnittlige FEV1-fallet størst (5,4%) for astmagruppen. I 13% av IS-prosedyrene var fallet i FEV1 > 10%, mens FEV1-reduksjon > 20% fant sted hos 3%. FEV1-fallet korrelerte ikke med utgangsverdien av FEV1 i % av forventet, eosinofilt celletall i sputum eller metakolin PC20. Suksessraten var på mer enn 90% vurdert ut fra < 40% plateepitelceller og > 1 * 10⁶ totale celler i sputumprøven.

Nylig har arteriell oksygendesaturasjon blitt observert hos røykere, friske individer og astmatikere, og undersøkelsen konkluderer med at individer som er hypoksiske forut for IS, bør monitoreres med pulsoksymetri i forbindelse med prosedyren.

Reliabilitet og validitet

Differensialtelling av cytospinnpreparater rapporteres å ha god observerbar overensstemmelse. Klinisk stabile pasienter viser god reproducerbarhet av differensialtelling og løselige mediatorer i gjentatte sputumprøver på forskjellige dager.

Cellefraksjonene og væskefasen av sputum skiller tydelig mellom astmatikere, røykere med kronisk bronkitt, kronisk obstruktiv lungesykdom og friske individer, hvilket indikerer at IS er en valid variabel for den underliggende inflammasjonen. Cellebildet ved IS skiller seg fra bronkoalveolær skylning og bronkial skylning ved at det er vesentlig flere nøytrofile og eosinofile celler i sputum og mindre makrofager. Dette skyldes antagelig at disse tre metodene sanker celler fra forskjellige deler av luftveiene. Det er imidlertid en god korrelasjon mellom prosentandelen av eosinofile celler for de tre metodene.

Klinisk bruk

Astma

Opptil 80% av kortikosteroid-naive personer og omtrent 50% av kortikosteroid-behandlede personer med pågående symptomatisk astma har eosinofile celler i sputum som er utenfor normalom-



For flere pasientgrupper vil det være aktuelt å undersøke på sputum for å se om økt antall eosinofile celler kan indikere god effekt av inhalasjonssteroider. For utvalgte grupper blant astmatikere og KOLS-pasienter kan det også være gunstig å monitorere og styre behandlingen ved gjentatte sputumprøver. FOTO: NINA BRUN

rådet (> 1,1% (øvre 90 percentilen)). Allerede i 1992 viste Pin og medarbeidere at astmatikere hadde en større andel av eosinofile (18,5% [SE 3,8] vs 1,9% [0,6]) og metakromatiske celler (0,5% [0,18] vs 0,039% [0,014]) i sputum sammenlignet med friske (3). Men spredningen av eosinofile celler i IS hos astmatikere har imidlertid vist seg å variere betydelig fra 0 ≥ 50%. Et cut-off på 1% som indikasjon på forhøyet antall eosinofile hos personer med positiv metakolintest og signifikant bedring i FEV1 etter beta2-agonist eller økt døgnvariasjon av PEF, gir en sensitivitet på > 80% og en spesifisitet på 95% for astma (19). IS synes derfor å være et nyttig verktøy for diagnostikken av astma.

Grad av eosinofili i sputum kan predikere alvorlighetsgraden av astma. I en studie av 74 astmatikere og 22 ikke-ato-piske kontroller var alvorlighetsgraden av astma (bestemt ved FEV1, variabilitet i

toppstrøms hastighet og daglig symptom-score) og metakolin-hyperreaktivitet relatert til sputum eosinofili og ECP (20).

Til tross for at sputum-eosinofili er et typisk tegn for astma, har man på bakgrunn av regelmessig bruk av sputum oppdaget at inflammasjon ved astma er mer heterogen enn tidligere antatt (21). Man kan nå identifisere en fenotype med ikke-eosinofil astma. Forekomsten av denne fenotypen er ikke uvanlig, og utgjør 25–55% av kortikosteroid-naive astmatikere (22). Det er viktig å identifisere denne gruppen ettersom ikke-eosinofil astma er assosiert med dårlig respons på kortikosteroider i kontrast til astmatikere med sputum-eosinofili som har god respons på kortikosteroider selv hos eksrøykere og nåværende røykere (23). Sputum-eosinofile på > 4% har en positiv korrelasjon med graden av klinisk forbedring på inhalasjonssteroider og var sterkere assosiert med klinisk respons ▶

Metode – indusert sputum

IS er en godt tolerert og trygg prosedyre selv hos personer med alvorlig sykdom. En detaljert prosedyre som inkluderer sikkerhetsaspekter ved undersøkelsen er beskrevet i et Supplement om IS i *European Respiratory Journal* (5).

Induksjonen (5, 6)

Selve induksjonsmetoden kan variere fra senter til senter, men det er uansett viktig å standardisere metoden man benytter og at man følger de nødvendige sikkerhetsprosedyrer. Det anbefales å gjøre spirometri før og under induksjon. Noen pasienter kan få kraftig bronkokonstriksjon under inhalering av forstøvet saltvann, og det er derfor viktig å monitorere dette ved å måle FEV1 under hele prosedyren. Til pasienter kan det anbefales å gi beta2-agonist før induksjon for å forhindre eller dempe bronkokonstriksjon. Ved lungeavdelingen på Rikshospitalet har vi også begynt å gi dette til friske frivillige forsøkspersoner av samme grunn, slik at det blir mindre ubehag.

Når man skal gjøre IS, benyttes ultralydforstøver som gir en forstøvet væskemengde på mellom 1 og 7 ml per minutt. Ved inhalering av forstøvet saltvann har vi benyttet hhv 3, 4 og 5% i perioder på sju minutter, men saltvannskonsentrasjonene og tidsperiodene kan variere noe fra senter til senter. Etter hver periode av inhalering av forstøvet saltvann pusser man nesen og skyller munnen. Deretter hoster man opp sputum/slim fra luftveiene og samler dette. Det er viktig at pasientene hoster, ikke harker, for å unngå kontaminering av plateepitelceller fra halsen. Har FEV1 falt med mer en 10%, fortsetter man neste periode med samme saltvannskonsentrasjon. Har FEV1 falt med mer enn 20%, avbrytes prosedyren og pasienten behandles med beta2-agonist. Sputumprøven oppbevares på is før prosessering (innen to timer).

Prosessering av sputum (6, 7)

Når man nå skal prosessere sputum, kan man enten bruke hele sputumporsjonen eller man kan selekere sputum-«plugger». Selektene plugges gjøres ved at man bruker en pinsett og plukker ut de mer viskøse eller tettere områder av sputum. Det er en arbeidskrevende og tidkrevende metode, og det kan være vanskelig å finne de tettere områdene. Man kan bruke et

mikroskop for å finne de tettere områdene. Plukking av sputum-«pluggen» er mest vanlig å gjøre, og det kan redusere kontaminering med saliva og plateepitel.

Prøven løses deretter opp ved å bruke fire volumdeler 0,1% dithiothreitol (DTT) løst i fosfatbufret saltvann (PBS) i forhold til vekt. Blandingen aspireres forsiktig inn og ut av en pipette og ristes/roteres i 15 minutter. Deretter tilsettes fire volumenheter PBS. Prøven filtreres gjennom et nylonfilter med poreåpning på 48 µm. Når løsningen ferdig prosessert til å kunne telle antall celler i et mikroskop og å lage cytospinpreparat. Hvis konsentrasjonen av celler er så lav at det gjør det vanskelig å telle, kan man sentrifugere cellene (5 min 340g) for å øke celletettheten.

Ved celledelling tilsettes Tryptanblå (10 µl) til celleløsning (10 µl) som så settes på et hemocytometer. Levende celler tar ikke farge, mens døde celler farges blått. Celletallet kan variere, men vil vanligvis være fra $0,5 \times 10^5$ celler til 10×10^6 celler totalt.

Anvendelse av sputum for analyse

1. Differensial celledelling

Cytospinnpreparat lages for å kunne differensialtelle cellene i sputumprøven (FIG 1). Cellepelletten lages i en konsentrasjon på 1×10^6 celler/ml, som så spinnes ned på et objektglass (polysin-behandlet) ved hjelp av et cytospinnsystem. Deretter farges cytospinpreparatene med en modifisert May-Grünwald-Giemsa metode (Diff-Quick), og et beskyttende glasslokk limes på. Se artikkel fra Fahy for å kunne identifisere celler i sputum ved celledelling i mikroskop (8). I IS finner man hos friske individer (median (10 og 90 persentiler)) 61% (33,0–86,1) makrofager, 37% (11,0–64,4) nøytrofile, 0% (0,0–1,1) eosinofile, 0,5% (0,01–2,60) lymfocytter (9). Bronkiale epitelceller og plateepitelceller er også til stede i sputumprøven.

2. Proteinanalyse

Ulike betennelsesmarkører kan måles i supernatanten i sputum for å få informasjon om pågående immunologiske prosesser i luftveiene (10–12). Til et slikt formål tar man vare på supernatanten til sputumprøven som man oppbevarer i en -70°C fryser. Det er mange kommersielt tilgjengelige kit som kan benyttes til å analysere

proteininnholdet i supernatanten. Disse kit'ene er vanligvis testet ut på måling av proteiner i blod eller i forsøk med celler, men ikke i sputumprøver. Derfor må man teste ut kit'ene man kjøper inn.

Et problematisk område er at sputumprøvene er tilsatt DTT. Dette for å løse opp slim og gjøre sputum mer flytende. DTT kan forandre den native strukturen til proteinene siden den ved å løse opp sputum også reduserer disulfid-bindingene til proteinene. Dette kan påvirke binding mellom protein og antistoff og kan gi falske negative resultater. Man kan teste de ulike kit'ene ved å a) tilsette DTT i standardkurven og sammenligne dette med en standardkurve uten DTT, b) tilsette en bestemt mengde av det proteinet man analyserer til noen av sputumprøvene og sammenligne dette med der man ikke har tilsatt ekstra protein, og c) teste om DTT i seg selv gir falsk positivt signal. Det har også kommet ut en artikkel som viser hvordan man kan fjerne DTT ved hjelp av dialyse (13).

3. Genanalyser

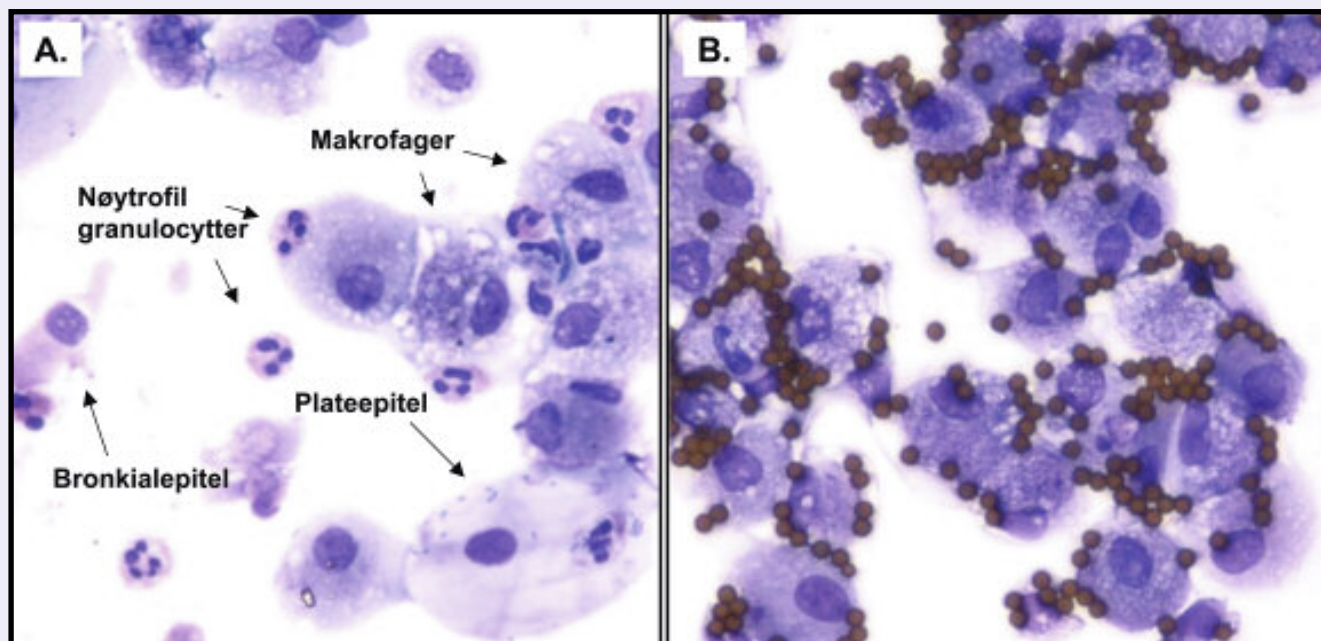
Fra cellene i sputumprøven kan man isolere både RNA og DNA ved hjelp av kommersielle RNA- og DNA-isoleringskit. Man kan gjøre slike analyser på hele cellepopulasjonen, eller hvis man ønsker å studere en celletype nærmere, er det mulig å isolere ut bestemte celletyper ved hjelp av magnetiske kuler (FIG 1) for deretter å isolere ut RNA eller DNA (14).

4. Analyser ved bruk av flowcytometri

Cellene i sputumprøven kan analyseres ved bruk av et flowcytometer. Man kan gjøre differensial celledelling, samt studere overflatemarkører og fagocytoseaktivitet (10, 15–17). Plateepitelcellene i den induserte sputumprøven kan gjøre analyse vanskelig. Ved å tilsette en leukocytcellemarkør (CD45) kan man identifisere leukocytene. Det vil forenkle analysene noe. Sputumprøvene bør helst analyseres på et flowcytometer innen to døgn etter prøvetaking.

5. Immunohistokjemi og In situ hybridisering

Cellene kan også spinnes ned på et objektglass slik at man kan gjøre ulike immunfarginger for proteinanalyse, samt DNA- og RNA-analyser. (7, 18).



FIGUR 1. A) Mikroskopbilde av celler fra induisert sputum. B) Makrofager isolert fra induisert sputum ved hjelp av magnetkuler.

enn ekshalert NO, eller ECP i perifert blod (24).

Det foreligger nå også sterk evidens fra to uavhengige studier for viktigheten av å monitorere luftveisinflammasjon ved IS for å redusere astmaeksaserbasjoner (22, 25). I en randomisert placebokontrollert studie ble 74 personer med astma randomisert, enten til en behandlingsstrategi med tanke på å normalisere deres sputum-eosinofili eller til standard klinisk behandling (22). Pasientene i sputumgruppen hadde signifikant færre alvorlige astmaeksaserbasjoner enn pasienter i kontrollgruppen (35 eksaserbasjoner vs. 109 eksaserbasjoner, $P=0,01$), og signifikant færre pasienter ble hospitalisert med astma (1 pasient vs. 6 pasienter, $P=0,047$). Reduksjonen i eksaserbasjoner ble oppnådd uten at man økte det totale forbruk av kortikosteroider i sputumgruppen.

I en annen studie av 117 astmatikere som ble fulgt i to år, førte normalisering av sputum-eosinofili i den ene gruppen til langt færre eksaserbasjoner (79 eksaserbasjoner i kontrollgruppen vs. 47 eksaserbasjoner i sputumgruppen, $P=0,04$) og antall døgn til første eksaserbasjon økte med 213 dager (25). I sputumgruppen reduserte man antallet eksaserbasjoner hos dem med økning i eosinofili i sputum, men ikke dem med ikke-eosinofile eksaserbasjoner. Interessant nok var ikke-eosinofile eksaserbasjoner mer van-

lig (56%). Reduksjonen i antall eksaserbasjoner var tydeligere for dem med alvorlig sykdom. Dette antyder at det sannsynligvis er mest hensiktsmessig å bruke sputum-monitorering i behandlingen av refraktær eller vanskelig behandlingsbar astma. Økonomiske analyser viser at helserelaterte besparelser, som en konsekvens av reduksjon i astmaeksaserbasjoner, overstiger kostnadene forbundet med sputum-monitorering (22, 26).

Diagnosen av yrkesbetinget astma kan være vanskelig. Indusert sputums potensial for gjentatte målinger kan utnyttes i diagnostikken ved at IS utføres i eksponerte og ueksponerte perioder. Variabilitet i inflammasjonsbildet kan fremkomme dersom inflammasjonen skyldes eksponeringen, analogt med hvordan man kan se variabilitet i PEF-målinger og uspesifikk bronkial provokasjonstest i eksponerte og ueksponerte perioder. I en studie av Lemiere og medarbeidere ble sputum fra ti personer med yrkesastma undersøkt med hensyn på eosinofili og ECP etter 2-4 uker i eller ute av arbeid (27). Undersøkelsesgruppen hadde signifikant høyere eosinofilt celledtall (10,0% [median] 17,5 [interkvartil range]) etter eksponeringsperioden sammenlignet med ueksponert periode (0,8 [1,6]%). Tilsvarende var også ECP i sputum signifikant høyere i eksponeringsperioden.

Nøytrofil inflammasjon kan også sees ved yrkesindusert astma. Hos en pasient som utviklet astma som følge av eksponering for metall smørevæske, kunne man observere ved gjentatte sputumundersøkelser en nøytrofil bronkitt i eksponeringsperiodene, og en normalisering av bronkitten i ikke-eksponerte perioder.

KOLS

Antall nøytrofile celler er vanligvis økt i sputum hos KOLS-pasienter. I en publisasjon av Peleman og medarbeidere (28) med 21 KOLS-pasienter med gjennomsnittlig FEV1 på 1,6 L (54% av forventet), utgjorde nøytrofile celler $74,9 \pm 4,0\%$, mens overveiende makrofager ($74,0 \pm 4,0\%$) ble funnet hos de normale kontrollene. I tillegg er det vist at antall nøytrofile i IS er relatert til redusert FEV1 og til det økte fallet i FEV1. Dette indikerer at nøytrofil luftveisinflammasjon er av funksjonell viktighet (29).

Opptil 40% av pasienter med KOLS har $> 3\%$ eosinofile celler i IS (30). Disse pasientene er med hensyn til kliniske karakteristika og lungefunksjon ikke mulig å skille fra pasienter uten sputum-eosinofili. Det er god evidens for at tilstedeværelse av sputum-eosinofili predikerer en objektiv respons på systemiske og inhalerte kortikosteroider ved KOLS (21). I en studie var responsen på en to-ukers behandling med orale kortikosteroider avhengig av baseline sputum-eosinofili

når det gjaldt bedringen i lungefunksjon og anstrengelsestoleranse (30). Jo høyere verdier av eosinofile, jo bedre effekt hadde man av behandlingen og samtidig et større fall i sputum eosinofile. Derimot fremkom ingen endring i sputum-nøytrofile. I en 12-måneders studie i en gruppe på 80 pasienter med KOLS hvor man forsøkte å holde sputum-eosinofile <3% med bruk av kortikosteroider, førte dette til en 62% reduksjon i alvorlige eksaserbasjoner av KOLS når man sammenlignet med en gruppe med tradisjonell symptombasert oppfølging (31). Igjen var denne fordelene ikke som følge av en generell økning av kortikosteroiddosene. Det kan derfor synes nyttig for utvalgte KOLS-pasienter å undersøke sputum-eosinofile for å identifisere KOLS-pasienter med kortikosteroid-responsiv sykdom, og videre monitorere inflammasjon i sputum for å rettlede behandlingen.

Kronisk hoste

Opptil 30% av pasienter med hoste har sputum-eosinofile på mer enn 3%. Halvparten av disse pasientene har ingen respirasjonsfysiologiske tegn på astma, men lider av en ikke-astmatisk eosinofil bronkitt (32). Brightling og medarbeidere (33) ved Glenfield Hospital i London undersøkte 91 pasienter henvist pga kronisk hoste og fant at 12 pasienter tilfredsstilte kriteriene for diagnosen eosinofil bronkitt. Forfatterne konkluderer med at IS er en viktig undersøkelse i utredningen av kronisk hoste. Påvisning av luftveisinflammasjon er den eneste måten å identifisere disse pasientene på, og IS er derfor en viktig undersøkelsesmetode i utredningen av pasienter med kronisk hoste. IS er ikke bare verdifull i utredning av årsak til kronisk hoste, men er også i stand til å identifisere pasienter med eosinofile som sannsynligvis vil ha god effekt av kortikosteroider. Dette i motsetning til pasienter uten sputum-eosinofile som ikke responderer på kortikosteroider.

Andre tilstander

Relativt lite er kjent når det gjelder IS i forhold til andre respiratoriske tilstander enn astma og KOLS.

Ved sarkoidose (SA) kan kjempecellegranulomer påvises i transbronkiale biopsier og økt CD4/CD8 ratio i BAL. I en studie av Fireman og medarbeidere viste IS det samme mønsteret av T-celleundergrupper som BAL med en sensitivitet på

100%, en spesifisitet på 81% og en positiv prediktiv verdi på 81% for å skille SA fra ikke-granulomatøs interstitiell lungesykdom (NG-ILD) (34). Ved kontraindikasjon for TBB eller BAL synes IS å være en effektiv ikke-invasiv teknikk til å identifisere CD4+ inflammasjon som skiller sarkoidose fra NG-ILD.

BAL har vært en nyttig metode ved vurdering av støvlungesykdom. Men på grunn av metodens invasivitet er den ikke brukbar for screeningprogrammer eller for monitorering av skadelig støv. IS har vært vurdert som en alternativ metode til BAL i denne sammenheng. I en studie av fem arbeidere eksponert for asbest og 15 eksponerte for silika eller hardmetall, ga BAL og IS sammenlignbare kvalitative og kvantitative resultater, men forfatterne understreker at ytterligere forskning er nødvendig for å evaluere hypotesen at IS kan være nyttig til å monitorere eksponerte arbeidere.

Ved idiopatisk pulmonal fibrose, er både nøytrofile og eosinofile inflammasjoner rapportert. Men et problem ved å bruke sputuminduksjon i vurdering av interstitiell lungesykdom er at sputum hovedsakelig reflekterer inflammasjon i de store og proksimale luftveier, og derfor i samme grad kan gi informasjon om de perifere luftveier som er interessante for å vurdere lymfocytær alveolitt. Det er imidlertid økende evidens for at IS kan bli et verdifullt verktøy for å kvantifisere miljøeksponering for karbonpartikler, sopp og pollen og gjenkjenne mineraleksponering i sammenheng med yrkesrelatert lungesykdom (21). Disse nye applikasjonene trenger imidlertid nærmere kartlegging.

IS har vært brukt i forskningssammenheng for å identifisere industriarbeidere som etter eksponering for forskjellige typer støv, responderer med inflammasjon i luftveiene (10, 35, 36). Blant arbeidere i papirindustrien, bioproteinproduksjon og sementproduksjon har nøytrofil inflammasjon blitt oppdaget i sputum hos ellers friske og symptomfrie arbeidere. Konsekvensen av en slik inflammasjon er usikker, men kan være indikasjon på et uheldig arbeidsmiljø med behov for eksponeringsreduksjon.

Konklusjon

Indusert sputum har en rekke anvendelser i klinisk sammenheng. For flere pasientgrupper vil det være aktuelt å undersøke på sputum for å se om det er

økt antall eosinofile celler som vil indikere god effekt av inhalasjonssteroider. For utvalgte grupper blant astmatikere og KOLS-pasienter kan det være gunstig å monitorere og styre behandlingen ved gjentatte sputumprøver. Færre eksaserbasjoner har vært observert ved en slik kontroll. Ved astma og yrkesastma vil sputum kunne være til diagnostisk hjelp. Innenfor gruppen av støvlungesykdom eller som monitorering av eksponerte arbeidere foreligger det interessante data, men fortsatt er det nødvendig med flere studier for å bli klar over tolkning og anvendelse av indusert sputum i en slik sammenheng.

Referanser

1. Bickerman HA, Sproul EE, Barach AL. An aerosol method of producing bronchial secretions in human subjects: a clinical technic for the detection of lung cancer. *Dis Chest* 1958 Apr; 33(4): 347–62.
2. Bigby TD, Margolskee D, Curtis JL, Michael PF, Sheppard D, Hadley WK, et al. The usefulness of induced sputum in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1986 Apr; 133(4): 515–8.
3. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girsig-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992 Jan; 47(1): 25–9.
4. 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 Feb; 161(2 Pt 1): 475–8.
5. Leader of the Working Group: E.Pizzichini, Members of the Working Group, Pizzichini MMM, Leigh R, Djukanovic R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002 Jul 1; 20(37_suppl): 9S–18.
6. Djukanovic R, Sterk PJ, Fahy JV, Hargreave FE. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur Respir J* 2002 Jul 1; 20(37_suppl): 1S–2.
7. Leader of the Working Group, Members of the Working Group, Hamid Q, Kelly MM, Linden M, Louis R, et al. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J* 2002 Jul 1; 20(37_suppl): 19S–23.
8. Fahy JV, Boushey HA, Lazarus SC, Mauger EA, Cherniack RM, Chinchilli VM, et al. Safety and reproducibility of sputum induction in asthmatic subjects in a multicenter study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 May; 163(6): 1470–5.
9. Jayaram L, Parameswaran K, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts: their usefulness in clinical practice. *Eur Respir J* 2000 Jul; 16(1): 150–8.

10. Sikkeland LI, Haug T, Stangeland AM, Flatberg G, Sostrand P, Halvorsen B, et al. Airway inflammation in paper mill workers. *J Occup Environ Med* 2007 Oct; 49(10): 1135–42.
11. Esther CR, Jr., Alexis NE, Clas ML, Lazarowski ER, Donaldson SH, Pedrosa Ribeiro CM, et al. Extracellular purines are biomarkers of neutrophilic airway inflammation. *Eur Respir J* 2008 May 1; 31(5): 949–56.
12. Leader of the Working Group, Members of the Working Group, Keatings V, Leigh R, Peterson C, Shute J, et al. Analysis of fluid phase mediators. *Eur Respir J* 2002 Jul 1; 20(37_suppl): 24S–39.
13. Erin EM, Jenkins GR, Kon OM, Zacharasiewicz AS, Nicholson GC, Neighbour H, et al. Optimized dialysis and protease inhibition of sputum dithiothreitol supernatants. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 Jan 15; 177(2): 132–41.
14. Sikkeland LI, Kongerud J, Stangeland AM, Haug T, Alexis NE. Macrophage enrichment from induced sputum. *Thorax* 2007 Jun; 62(6): 558–9.
15. Alexis NE, Lay JC, Zeman KL, Geiser M, Kapp N, Bennett WD. In vivo particle uptake by airway macrophages in healthy volunteers. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006 Mar; 34(3): 305–13.
16. Maestrelli P, De FO, Bertin T, Papiris S, Ruggieri MP, Saetta M, et al. Integrin expression on neutrophils and mononuclear cells in blood and induced sputum in stable asthma. *Allergy* 1999 Dec; 54(12): 1303–8.
17. Alexis N, Soukup J, Ghio A, Becker S. Sputum phagocytes from healthy individuals are functional and activated: a flow cytometric comparison with cells in bronchoalveolar lavage and peripheral blood. *Clin Immunol* 2000 Oct; 97(1): 21–32.
18. St-Laurent J, Turmel V, Boulet LP, Bissonnette E. Alveolar macrophage subpopulations in bronchoalveolar lavage and induced sputum of asthmatic and control subjects. *J Asthma* 2009 Feb; 46(1): 1–8.
19. Hunter CJ, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ, Pavord ID. A comparison of the validity of different diagnostic tests in adults with asthma. *Chest* 2002 Apr; 121(4): 1051–7.
20. Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanovic R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 Jan; 161(1): 9–16.
21. Brightling CE. Chronic cough due to nonasthmatic eosinophilic bronchitis: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006 Jan; 129(1 Suppl): 116S–21S.
22. Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002 Nov 30; 360(9347): 1715–21.
23. Bacci E, Cianchetti S, Bartoli M, Dente FL, Di FA, Vagaggini B, et al. Low sputum eosinophils predict the lack of response to beclomethasone in symptomatic asthmatic patients. *Chest* 2006 Mar; 129(3): 565–72.
24. Meijer RJ, Postma DS, Kauffman HF, Arends LR, Koeter GH, Kerstjens HA. Accuracy of eosinophils and eosinophil cationic protein to predict steroid improvement in asthma. *Clin Exp Allergy* 2002 Jul; 32(7): 1096–103.
25. Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, Boulet LP, Lemiere C, Pizzichini E, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J* 2006 Mar; 27(3): 483–94.
26. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 2002 Oct; 57(10): 875–9.
27. Lemiere C, Pizzichini MM, Balkissoon R, Clelland L, Efthimiadis A, O'Shaughnessy D, et al. Diagnosing occupational asthma: use of induced sputum. *Eur Respir J* 1999 Mar; 13(3): 482–8.
28. Peleman RA, Ryttila PH, Kips JC, Joos GF, Pauwels RA. The cellular composition of induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999 Apr; 13(4): 839–43.
29. Stanescu D, Sanna A, Veriter C, Kostianev S, Calcagni PG, Fabbri LM, et al. Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV1 in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* 1996 Mar; 51(3): 267–71.
30. Brightling CE, Monteiro W, Ward R, Parker D, Morgan MD, Wardlaw AJ, et al. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000 Oct 28; 356(9240): 1480–5.
31. Siva R, Green R, Brightling C. Modulation of eosinophilic inflammation in COPD. *Eur Respir J* 2005; 26 (Suppl 49): 441s.
32. Brightling CE. Clinical applications of induced sputum. *Chest* 2006 May; 129(5): 1344–8.
33. Brightling CE, Ward R, Goh KL, Wardlaw AJ, Pavord ID. Eosinophilic bronchitis is an important cause of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 Aug; 160(2): 406–10.
34. Fireman E, Topilsky I, Greif J, Lerman Y, Schwarz Y, Man A, et al. Induced sputum compared to bronchoalveolar lavage for evaluating patients with sarcoidosis and non-granulomatous interstitial lung disease. *Respir Med* 1999 Nov; 93(11): 827–34.
35. Sikkeland LI, Eduard W, Stangeland AM, Thorgersen EB, Haug T, Aukrust P, et al. Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. *Inhal Toxicol* 2009 Jul; 21(8): 674–81.
36. Fell AK, Sikkeland LI, Svendsen MV, Kongerud J. Airway Inflammation in Cement Production Workers. *Occup Environ Med* 2009 Oct 22.