

# Skuteczność „fletu płucnego” w indukcji plwociny u pacjentów z podejrzeniem gruźlicy płuc

Kentaro Sakashita<sup>1,2</sup> | Akira Fujita<sup>1</sup> | Mikio Takamori<sup>1</sup> | Takayuki Nagai<sup>3</sup> | Tomoshige Matsumoto<sup>3</sup> | Takefumi Saito<sup>4</sup> | Taku Nakagawa<sup>5</sup> | Kenji Ogawa<sup>5</sup> | Eriko Shigeto<sup>6</sup> | Yasuto Nakatsumi<sup>7</sup> | Hajime Goto<sup>8</sup> | Satoshi Mitarai<sup>2,8</sup>

**Abstrakt:** Wysokiej jakości plwociny pomagają zwiększyć wrażliwość diagnozy gruźlicy płuc.

**Cele:** Ocena wydajności urządzenia akustycznego (Lung Flute; LF) w indukcji plwociny w porównaniu z konwencjonalną metodą, hipertoniczną inhalacją solą fizjologiczną (HSI).

**Metody:** W tym badaniu zwrotnicy pacjenci z podejrzeniem gruźlicy płuc złożyli 3 kolejne próbki plwociny: pierwszą plwociną bez indukcji oraz drugą i trzecią za pomocą LF i HSI. Porównaliśmy skuteczność 2 metod indukcji.

**Wyniki:** 64 uczestników zakwalifikowało się. Trzydziestu pięciu (54,6%) pacjentów miało wymazy z pierwszej plwociny bez indukcji. Wśród tych pacjentów, u 25,7% i 22,9% pacjentów były rozmazy dodatnie po zastosowaniu LF i HSI). Dodatni współczynnik konwersji nie różnił się znacząco między metodami. Pierwsze próbki bez indukcji przyniosły 65,7% pozytywnych wyników, podczas gdy 71,4% i 77,1% próbek z LF i HSI były dodatnie (P 5,284). Podobne wyniki obserwowano w teście amplifikacji kwasu nukleinowego [brak indukcji (60,0%), LF (72,0%) i HSI (60,0%); P 5.341]. U 29 pacjentów z dodatnim rozmazem na pierwszej plwocinie bez indukcji, nie zaobserwowaliśmy znaczącego wzrostu stopnia rozmazu, plonu hodowli i wzmocnienia kwasu nukleinowego pozytywnego testu z obu metod. LF zwykle wywoływał mniej zdarzeń niepożądanych; desaturacji (3,1% vs 11,1%; P 5,082) i ból gardła (1,5% vs 9,5%; P5.057). LF wykazały znacznie mniej wszystkich zdarzeń niepożądanych (15,8% vs 34,9%; P 5.023).

**Wnioski:** Nasze badanie wykazało, że LF miał podobną skuteczność indukcji plwociny do HSI ze stosunkowo mniejszą liczbą powikłań.

**Słowa kluczowe:** kaszel, zakażenie płuc, objaw, gruźlica

2017 Autorzy. Clinical Respiratory Journal Opublikowany przez John Wiley & Sons Ltd

## 1 | WPROWADZENIE

Wczesne rozpoznanie gruźlicy płuc jest niezbędne do skutecznego leczenia gruźlicy i kontroli zakażeń. Rozmaz jest nadal jedyną metodą w wielu diagnozach aktywnej GRUŻLICY. Metoda ta wymaga wysokiej jakości próbek plwociny do wykrywania wysokiej czułości kwasu szybko-bacilli (AFB). Jedno z badań dotyczących jakości próbki plwociny wśród pacjentów z gruźlicą płuc sugerowało, że ropna lub zabarwiona krwią plwocina wykazała znaczną, pozytywną korelację z pozytywnością rozmazu AFB w porównaniu z mukoid lub śliną spec mens.<sup>1</sup> Jednak niektórzy pacjenci, w tym małe dzieci, osoby starsze i osoby żyjące z ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) zazwyczaj oczekują bez plwociny. W takich przypadkach obecnie zaleca się inhalację soli fizjologicznej hipertonicznej (HSI) w celu wywołania plwociny. Metoda ta wymaga stosowania nebulizatora ultradźwiękowego i aseptycznego hipertonicznego roztworu soli fizjologicznej, które nie są łatwo dostępne w ustawieniach ograniczonych zasobami. W związku z tym istnieje potrzeba prostej metody indukcji plwociny, która nie wymaga energii elektrycznej ani dodatkowego urządzenia.

Flet płucny (LF; Medical Acoustics, Buffalo, Nowy Jork) to urządzenie akustyczne wynalezione w 2002 roku w celu promowania wykrzucania plwociny. Jest mały, lekki i składa się tylko z ustnika z wewnętrznym trzciną przymocowaną do prostokątnej rurki z tworzywa sztucznego o długości 36,8 cm (Rysunek 1). LF nie wymaga innego urządzenia ani zewnętrznego źródła zasilania do pracy. Gdy pacjent delikatnie wydycha przez ustnik, LF generuje 18–22 Hz fal akustycznych i 110–115 dB wyjście przy ciśnieniu 2,5 cm H<sub>2</sub>O. Fale te przemieszczają się w dół, wzdłuż tchawicy i wibrują. W rezultacie LF może zwiększyć klirens plwociny i złagodzić odrzut. W 2012 r. Światowa Organizacja Zdrowia uznała LF za innowacyjne urządzenie medyczne do diagnozowania gruźlicy płuc, szczególnie w ograniczonych zasobach warunkach.

<sup>2</sup> Us Food and Drug Administration zatwierdziła LF jako urządzenie indukcyjne płwociny do celów diagnostycznych w 2006 roku. <sup>3</sup>

Wykazano, że LF jest w stanie skutecznie wywołać wykrztuśność płwociny skutecznie u pacjentów z podejrzeniem pulmo-nary TB, którzy nie są w stanie oczekiwać płwociny od razu, spontanicznie. <sup>4</sup> Jednakże, jak dotąd w żadnym kontrolowanym badaniu nie porównano skuteczności indukcji płwociny pomiędzy LF a HSI. Celem tego badania była ocena skuteczności indukcji płwociny LF w porównaniu z HSI w przypadku rozpoznania bakteriologicznego pacjentów z przypuszczalną gruźlicą płuc.

## 2 | UCZESTNICY I METODY

Było to wieloośrodkowe badanie przeprowadzone w szpitalach o pojemności 6 TB w Japonii. Pacjenci, u których istnieje duże podejrzenie o zapornie na gruźlicę płuc i którzy nie mogli łatwo oczekiwać płwociny, zostali poddani kontroli badanych w okresie od 1 grudnia 2010 r. do 31 listopada 2013 r. Pacjenci zostali poproszeni o oczekiwanie na płwocinę. Jeżeli pierwsza otrzymana próbka była mniejsza niż 21 dodatnia w mikroskopii rozmazowej, kwalifikowały się one do badania. Jeśli pierwsza mikroskopia rozmazu uczestników była pozytywna, pacjenci natychmiast rozpoczęli leczenie przeciw gruźlicy. Kryteria wykluczenia były następujące: 31 płwociny AFB rozmaz wynik kopiowania przy rejestracji, astma, hemoptyza, przewlekła hipoksemia ( $SpO_2 < 90\%$  w otaczającym powietrzu), łatwe wykrztuszanie spontanicznej płwociny i brak zrozumienia procedur indukcji płwociny. Dodatkowo, pacjenci leczeni lekami przeciw GRUŻLICY przez ponad 5 dni zostali wykluczeni, aby uniknąć wpływu leczenia gruźlicy na wyniki badań laboratoryjnych.

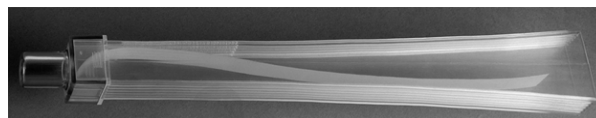
### 2.2 | Procedury indukcji płwociny

Zarejestrowani uczestnicy zostali losowo przydzieleni do 2 grup, A i B, po tym, jak wyczekiwali pierwszego płwociny sam- pleli bez indukcji. Uczestnicy grupy A przeszli drugą próbkę płwociny przy użyciu LF, a następnego dnia przeszli trzecią próbkę przy użyciu HSI; kolejność została odwrócona dla uczestników grupy B. Aby uniknąć efektu poprzedniej indukcji płwociny, zebraliśmy 2 próbki płwociny w odstępie co najmniej 24 godzin. LF był używany zgodnie z instrukcjami producenta, a procedurę przeprowadzono rano. Krótko mówiąc, po głębokim wdychaniu pacjenci dwukrotnie

wydychali do ustnika LF. Następnie odpoczywali przez 2 lub więcej normalnych oddechów i powtarzali proces 20 razy pod opieką i obserwacją personelu medycznego. HSI z 3% sól fizjologiczną hipertoniczną przeprowadzono przy użyciu nawilżacza ultradźwiękowego przez 10 minut. W ciągu 3 godzin od wykonania indukcji płwociny uczestnicy oczekiwali płwociny w sterylnej kubek.

### 2.3 | Procedury laboratoryjne

Próbki płwociny były trawione i odkażone przy użyciu standardowej metody odkażania N-acetylo-L-cysteina-2%. Po neutralizacji buforem fosforanowym (PB, pH 6,8) próbki były odwirowywały w 3000 g przez 15 minut w temperaturze 4,8C. Po odwirowaniu supernatant został odrzucony, a osad ponownie zawieszony w 1 ml PB. Badanie rozmazu AFB przeprowadzono przy użyciu mikroskopii auraminy



RYSUNEK 1 Obraz fletu płucnego

Wykorzystaliśmy 500 ml z każdej zawiesiny do hodowli za pomocą rurki wskaźnikowej wzrostu bakterii myco (MGIT; Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey). W kulturze pozytywnej bacilli Myco-bakteria gruźlica (MTB) zostały zidentyfikowane przez immunoprecypitację przepływu lat- eral (Capilia TB; TAUNS, Izunokuni-shi Japonia). Mycobacterial DNA został wydobyty z 200 ml zawiesiny za pomocą systemu automatycznego (Magtration System 12GC PLUS, Precision Science System, Chiba, Tokyo) zgodnie z instrukcjami producenta. Pobrane próbki DNA były przechowywane w temperaturze -08C do momentu wzmocnienia kwasu nukleinowego. Ilościowe wzmocnienie kwasu nukleinowego zostało wykonane przez reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (PCR) przy użyciu QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR system (Applied Biosystems, Foster City, California), zgodnie z wcześniej zgłoszoną metodą. <sup>5</sup>

### 2.4 | Dane kliniczne i działania niepożądane

Korzystając ze znormalizowanego kwestionariusza, dane dotyczące podstawowych cech uczestników, w tym ich wieku, płci, wskaźnika masy ciała i wyników radiografów klatki piersiowej (obecność kawitacji płuc i zakres choroby) zostały zebrane.

Monitorowaliśmy SpO<sub>2</sub> uczestników podczas indukcji płwociny. Odnotowano wszelkie działania niepożądane indukcji płwociny, w tym dyskomfort w gardle, ból gardła, duszność, świszczący oddech, silny kaszel, drętwienie, drżenie i nudności, a także liczbę uczestników, których SpO<sub>2</sub> zmniejszyło się o ponad 3% w trakcie lub po indukcji płwociny.

## 2.5 | Analiza statystyczna

Dokładny test Fishera wykorzystano do porównania danych kategorii między grupami i metodami. Test Q Cochran'a został użyty do porównania wyników danych binarnych z ponad 3 sparowanymi grupami. Test porównania wyników danych binarnych między 2 sparowanymi grupami. Test Kruskal-Wallis został użyty do porównania stopnia pozytywności spulchnego AFB i czasu na pozytywność (w dniach) próbek bez indukcji z tymi, które używają LF i HSI. Użyliśmy niesparowany test, aby porównać 2 kolejne zmienne, które nastąpiły po normalnym rozkładzie. Aby porównać 2 kolejne zmienne, które nastąpiły po rozkładzie nienormalnych, użyliśmy testu Mann-Whitney U. Różnica została uznana za statystycznie istotną, gdy  $P < .05$ .

## 2.6 | Kwestia etyczna

Instytucjonalne komisje rewizyjne wszystkich 6 uczestniczących szpitali zatwierdziły to badanie. Wszyscy kwalifikujący się uczestnicy dostarczyli pisemną świadomą zgodę przed rejestracją.

### WYNIKI 3.1

Chociaż łącznie włączono 67 uczestników, 1 wycofał zgodę we wczesnej fazie leczenia gruźlicą. Jeden uczestnik w każdej grupie został wykluczony z analizy, ponieważ ich zbiory wyników były niekompletne. Następnie, w sumie 64 osób z przypuszczalnie cierpiących na gruźlicę, 32 w grupie A i 32 w grupie B, zostały ostatecznie włączone do analizy (Rysunek 2).

Średnia wieku uczestników wynosiła 58 lat +/- 17 lat. Z 64 uczestników 22 (34,3%) stanowiły kobiety. Średni wskaźnik masy ciała wynosił 20,63 kg/m<sup>2</sup>. Na rtg klatki piersiowej, 28 (43,7%) uczestnicy zaprezentowali płuca; z nich 7 (10,9%) przedstawione szeroko zakrojone ponad 50% pola płucnego. Nie stwierdzono istotnej różnicy w podstawowych cechach lub wynikach radiografu klatki piersiowej między dwiema grupami [A (n=32) i B (n=32); Tabela 1]; nie stwierdzono również istotnej różnicy w rozkładzie pozytywności rozmazu

między grupami w pierwszej próbce (rysunek 3A, B) ( $P = .883$ ). Wszystkie z 64 Pacjentów sukces- w pełni oczekiwano sputa w ciągu 3 godzin po użyciu LF i HSI. Wśród 64 pacjentów 35 miało wymazy dodatnie AFB w ich pierwszych próbkach (rysunek 3C)

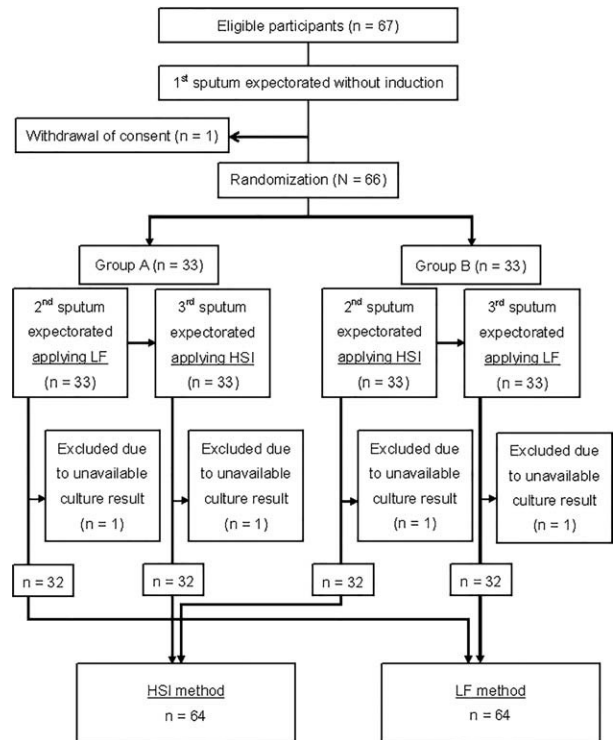
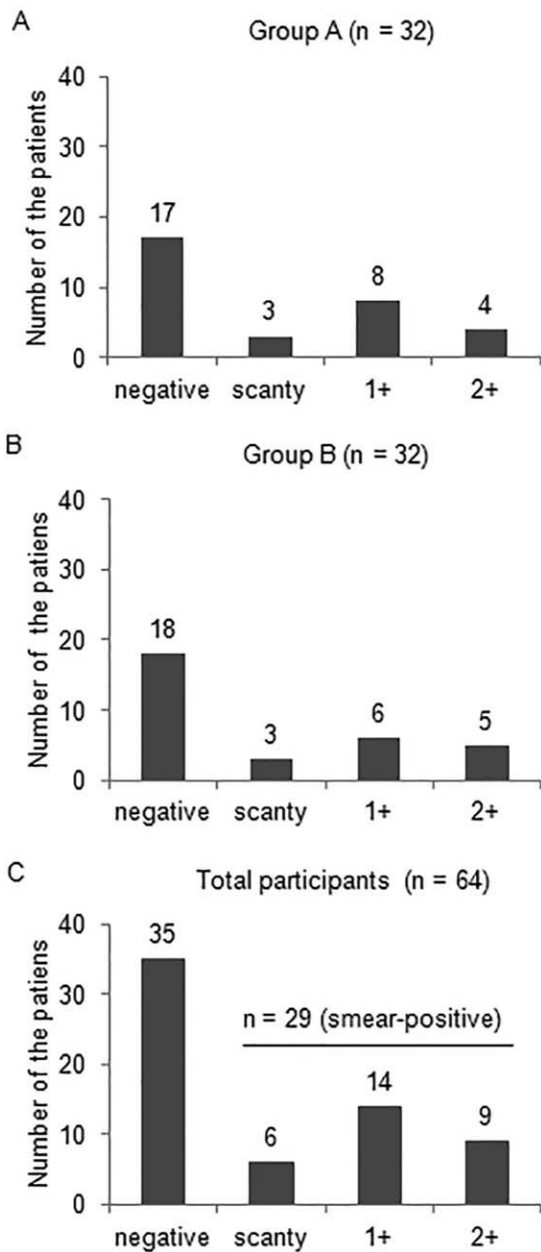


FIGURE 2

Profil badania zwrotnicy i proces rejestracji, randomizacja i ostatecznego włączenia. Skróty: HSI, sól fizjologiczna hipertoniczna

Pozytywność PCR była zazwyczaj wyższa w próbkach otrzymanych za pomocą LF [72,0% (95% CI: 50,0–87,9)], w porównaniu z próbkami uzyskanymi z HSI [60,0% (95% CI: 38,6–78,8)] oraz te bez indukcji płwociny [60,0% (95% CI: 38,6–78,8)] ( $P = .341$ ) (Tabela 2).

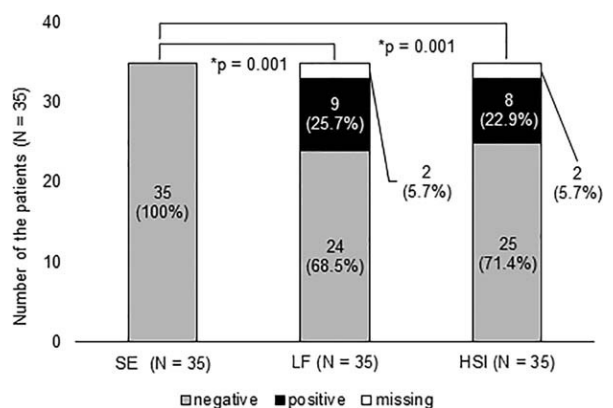
U pozostałych 29 pierwszych pacjentów z dodatnim rozmazem płwociny z 64 uczestników nie zaobserwowano znaczącego wzrostu rozmazu przez LF lub HSI ( $P = .418$ , Cochran's Q test).



### 3.2 | Wydajność diagnostyczna LF i HSI

Wśród 64 uczestników nie zaobserwowano znaczącej różnicy w pozytywności hodowli płynnej {79,6% [95% przedział ufności (95% CI): 67,7–88,7] w pierwszej próbce płwociny, 82,8% [95% CI: 71,3–91,0] w próbce płwociny z LF i 85,9% [95% CI: 74,9–93,3] w próbce płwociny z HSI; P5.440}, mediana czasu do wykrycia [11,0 dni (95% CI: 10,0–14,7)] pierwszej próbki płwociny [13,0 dni (95% CI: 12,0–14,0)] w sputa z LF i 12,5 dni (95% CI: 10,5–14,0) u osób z HSI; P 5.437] i pozytywność PCR między pierwszymi próbkami płwociny bez indukcji [77,7% (95% CI: 64,4–87,9)] a tymi uzyskanymi przy użyciu LF [79,6% (95% CI: 66,4–89,3)] i HSI [74,0% (95% CI: 60,3–85,0); P 5 .600].

W sumie pierwsza próbka płwociny 35 pacjentów była ujemna w przypadku AFB. Wśród nich statystycznie oznaczenie afb konwersje rozmazu AFB (z negatywnego na dodatnie) zostały określone zarówno w LF, jak i HSI (P 5 .003, Cochran's Q test). Liczba pacjentów z konwersją rozmazu wynosiła 9 [25,7% (95% CI: 12,4–43,2), P 5,001] dla LF i 8 [22,8% (95% CI: 10,4–40,1), P5,001] dla HSI (rysunek 4). Nie zaobserwowano znaczącej różnicy w rozmazie dodatnim wskaźniku wersji między LF i HSI (P5.738, McNemer's test). Pozytywność hodowli płynnej była zwykle wyższa w tej wywołanej przez LF [71,4% (95% CI: 53,6–85,3)] i HSI [77,1% (95% CI: 59,8–89,5)] niż w sputa pierwszych próbek [65,7% (95% CI: 47,7–80,8)] (P5,284) (Tabela 2). Mediana czasu do wykrycia była również krótsza w LF [14,0 dni (95% CI: 13,0–18,7)] i HSI [14,0 dni (95% CI: 11,0–19,6)] – w porównaniu z pierwszymi próbkami w tej podgrupie [17,0 dni (95% CI: 12,0–20,5)] (P 5 ,798) (Tabela 2). Próbkę płwociny 10 pacjentów wśród 35 pacjentów z wynikiem rozmazowo-ujemnym nie były przygotowane do amplifikacji kwasu nukleinowego, ponieważ ich stan przechowywania był inap-propriate. W związku z tym PCR przeprowadzono z 25 pacjentami



pozytywność kultury, czas do wykrycia lub pozytywność PCR między sputą z indukcją i bez niej (Tabela 2).

### 3.3 | Zdarzenia niepożądane z LF i HSI

Informacje o zdarzeniach niepożądanych udało nam się uzyskać od 63 z 64 wszystkich pacjentów, ponieważ dane dotyczące zdarzeń niepożądanych 1 pacjenta nie zostały zarejestrowane z nieznanego powodu. Zarejestrowano trzydzieści dwa działania niepożądane. LF zwykle powodować mniejszy dyskomfort w gardle i ból gardła (P5.248 i P 5.057, odpowiednio) (Tabela 3). Odsetek przypadków, w których SpO<sub>2</sub> zmniejszył się o ponad 3% po indukcji, był niższy w przypadku LF (3,17% vs 11,1%, P5,082).

Całkowita liczba zdarzeń niepożądanych była znacznie niższa w LF (10 zdarzeń) niż w HSI (22 zdarzenia) (P 5 .023, Tabela 3).

#### 4 | Dyskusja

W badaniu tym porównano skuteczność 2 metod indukcji płwociny, LF i HSI. Z naszych ustaleń wynika, że LF i ta metoda LF zwykle skutkują mniejszą liczbą przypadków zmniejszenia  $SO_2$  i mniejszą liczbą zdarzeń niepożądanych związanych z bólami gardła niż HSI. Wyniki te sugerują, że LF, podobnie jak HSI, może być stosowany do promowania wykrzucania płwociny u pacjentów z domniemaną gruźlicą, która może pomóc w rozpoznaniu.

Ograniczeniem naszego badania jest mała wielkość próbki, która wyklucza wszelkie wnioski na temat statystycznej niedościsty LF w porównaniu z HSI pod względem zdolności indukcji płwociny. Innym ograniczeniem było to, że determinowanie kwalifikowalności uczestników, którzy nie czuli natychmiastowej chęci do spodziewania się płwociny zależało od ich subiektywnych oświadczeń. Jednak proces indukcji został zwykle wprowadzony, gdy pacjent nie zgłosił natychmiastowej chęci oczekiwania płwociny.

Wyniki tego badania wykazały, że metoda LF może być ogólnie przyjazna dla użytkownika i korzystniejsza niż HSI. Zwykle, jednorazowy ustnik jest używany z HSI do sprawdzenia zanieczyszczenia i więcej uwagi należy zwrócić na możliwość zanieczyszczenia za pośrednictwem innych nie jednorazowych części nebulizatora ultradźwiękowego. Natomiast LF został zaprojektowany do indywidualnego użytku i dlatego może być wolny od zanieczyszczeń krzyżowych. Co więcej, ponieważ LF nie wymaga zewnętrznego źródła zasilania i jest łatwo przenośny, może służyć jako praktyczna metoda nawet dla pacjentów mieszkających w odległych obszarach z ograniczonym zasilaniem. W związku z tym uważamy, że LF może być potencjalną wymianą HSI.

#### 5 | Wnioski

LF był przydatny do indukcji wysokiej jakości płwociny do diagnozowania czynnej gruźlicy płuc, miał podobną skuteczność do HSI i ogólnie prowadził do mniejszej ilości zdarzeń niepożądanych. Chociaż dalsze badania będą wymagane do pełnej oceny wydajności LF, urządzenie to może być używane jako narzędzie indukcji płwociny.

#### Potwierdzenia

Autorzy dziękują Pani Fukuyo Ishido za jej wsparcie w rejestrowaniu danych pacjentów. LF został uprzejmie podarowany przez Acoustic Innovations Co., Ltd.

#### KONFLIKT INTERESÓW

Autorzy wyraźnie stwierdzili, że nie ma żadnych konfliktów interesów w związku z tym artykułem.

#### WKŁAD AUTORA

Wszyscy autorzy przyczynili się do opracowania badania i zbierania danych. Wszyscy autorzy przeczytali i zatwierdzili ostateczny manuskrypt. Przeprowadzono analizę statystyczną: Sakashita HSI przyczyniła się do konwersji wyników rozmazu u pacjentów przypuszczalnie o zatrzymywanie czynnej gruźlicy płuc, których pierwsza próbka była afb rozmaz ujemny. Nie zaobserwowaliśmy statystycznie istotnej różnicy w odniesieniu do pozytywności hodowli płynnej, czasu do wykrycia lub dodatniego wskaźnika PCR między LF i HSI. Dlatego nasze wyniki wykazały, że zarówno LF, jak i HSI są w podobny sposób zdolne do wywoływania wysokiej jakości próbek płwociny. Hensler et al. po raz pierwszy zgłosił feasi- bility i użyteczność HSI do uzyskania próbek płwociny odpowiedniej jakości od pacjentów z podejrzeniem gruźlicy płuc, którzy nie byli w stanie oczekiwać płwociny.<sup>6</sup> Od czasu opublikowania tego sprawozdania kilka badań wykazało korzyści i tolerancję indukcji płwociny z różnymi stężeniami soli fizjologicznej hipertonicznej.<sup>7,8</sup> W związku z tym HSI jest obecnie uważane za wykonalną metodę promowania odkuwacza płwociny. Ponieważ jest mniej inwazyjny niż aspiracja żołądkowa lub bronchoscopia, HSI jest również zalecany do wywoływania wysokiej jakości płwociny u małych dzieci.<sup>9,10</sup> Dodatkowo, kilka badań wykazało skuteczność HSI do diagnozowania pulmonary TB, szczególnie u pacjentów zakażonych HIV, którzy są znane z paucibacillary płwociny.<sup>11,12</sup> Chociaż HSI jest proste, wymaga sterylnej soli fizjologicznej hipertonicznej i elektrycznego nawilżacza ultradźwiękowego, więc trudno jest wykonać w ograniczonych ustawieniach zasobów.

W tym badaniu, stosowanie LF było proste i miało podobną zdolność wywoływania płwociny w porównaniu z HSI. Liczne badania wykazały, że LF może być skuteczną metodą uzyskania odpowiednich próbek płwociny do cytologicznych i molekularnych analiz wczesnego wykrywania raka

płuc.<sup>13,14</sup> Fur- termora, za pomocą LF pomaga złagodzić odkrztuszanie płwociny i łagodzi objawy pacjentów z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc.<sup>1</sup>

Napisał rękopis: Sakashita

Interpretacja wyników: Sakashita, Fujita, Mitarai

Sporządzono ostateczny manuskrypt: Sakashita, Fujita, Mitarai

## Etyka

Su J, Anjuman N, Guarnera MA, Zhang H, Stass SA, Jiang F. Analiza fletu płucnego—zebranej płwociny na raka płuc diagnosis. *Biomark Insights*. 2015;10:55–61.

Sethi S, Yin J, Anderson PK. Flute płuc poprawia objawy i stan zdrowia w POChP z przewlekłym zapaleniem oskrzeli: 26 tygodni randomizowanym kontrolowanym badaniu. *Clin Transl Med*. 2014;3:29.

Kentaro Sakashita

Odwołania:

<http://orcid.org/0000-0002-3948-5557>

1. Yoon SH, Lee NK, Yim JJ. Impact of sputum gross appearance and volume on smear positivity of pulmonary tuberculosis: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2012;12(1):172.
2. [2] World Health Organisation. Compendium of innovative health technologies for low-resource settings Assistive devices eHealth solutions Medical devices. World Health Organisation; 2013. Retrieved from <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s22284en/s22284en.pdf>
3. [3] U.S. Food and Drug Administration. 510(k) SUMMARY. U.S. Food and Drug Administration; 2006. Retrieved from [http://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf6/k060439.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf6/k060439.pdf)
4. [4] Fujita A, Murata K, Takamori M. Novel method for sputum induction using the Lung Flute in patients with suspected pulmonary tuberculosis. *Respirology*. 2009;14(6):899–902.
5. [5] Burggraf S, Reischl U, Malik N, Bollwein M, Naumann L, Olgemöller B. Comparison of an internally controlled, large-volume LightCycler assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical
6. [6] Hensler NM, Spivey CG, Dees TM. The use of hypertonic aerosol in production of

sputum for diagnosis of tuberculosis. Comparison with gastric specimens. *Dis Chest*. 1961;40:639–642.

7. [7] Brown M, Varia H, Bassett P, Davidson RN, Wall R, Pasvol G. Prospective study of sputum induction, gastric washing, and bronchoalveolar lavage for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients who are unable to expectorate. *Clin Infect Dis*. 2007;44(11):1415–1420.
8. [8] Geldenhuys HD, Kleynhans W, Buckerfield N, et al. Safety and tolerability of sputum induction in adolescents and adults with suspected pulmonary tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(4):529–537.
9. [9] Shata A, Coulter JB, Parry CM, Ching'ani G, Broadhead RL, Hart C. A. Sputum induction for the diagnosis of tuberculosis. *Arch Dis Child*. 1996;74(6):535–537.
10. [10] Scheicher ME, Filho JT, Vianna EO. Sputum induction: review of literature and proposal for a protocol. *Sao Paulo Med J*. 2003;121(5):213–219.
11. [11] Hepple P, Ford N, McNerney R. Microscopy compared to culture for the diagnosis of tuberculosis in induced sputum samples: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012;16(5): 579–588.
12. [12] Moore HA, Apolles P, De Villiers PJT, Zar HJ. Sputum induction for microbiological diagnosis of childhood pulmonary tuberculosis in a community setting. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15 (9):1185–1190.
13. [13] Anjuman N, Li N, Guarnera M, Stass S. A, Jiang F. Evaluation of Lung Flute in sputum samples for molecular analysis of lung cancer. *Clin Transl Med*. 2013;2(1):15.
14. [14] Su J, Anjuman N, Guarnera MA, Zhang H, Stass SA, Jiang F. Analysis of Lung Flute-collected sputum for lung cancer diagnosis. *Biomark Insights*. 2015;10:55–61.
15. [15] Sethi S, Yin J, Anderson PK. Lung Flute improves symptoms and health status in COPD with chronic bronchitis: a 26 week randomized controlled trial. *Clin Transl Med*. 2014;3:29.