

기관지 폐포 세정액에서 뉴우모시스티스 카리니의 면역세포화학적 검출

계명대학교 의과대학 병리학교실 및 의과학연구소, 영남대학교 의과대학 임상병리학교실*

권 건 영 · 조 승 제 · 김 상 표 · 박 관 규 · 장 은 숙 · 김 정 숙*

= Abstract =

Immunocytochemical Detection of *Pneumocystis carinii* in Bronchoalveolar Lavage

Kun Young Kwon, M.D., Seung Che Cho, M.D., Sang Pyo Kim, M.D., Kwan Kyu Park, M.D.,
Eun Sook Chang, M.D. and Chung Sook Kim, M.D.*

Department of Pathology and Institute of Medical Science, Keimyung University School of Medicine,
Department of Clinical Pathology, Yeongnam University School of Medicine*

Pneumocystis carinii is an established cause of pulmonary infections in immunocompromised hosts. Several cytological stains, such as Papanicolaou, Gomori methenamine silver(GMS) and Diff-Quik have been used for detection of the organism, but occasionally can be laborious and, due to a degree of nonspecificity, may be misleading.

We evaluated the diagnostic utility of immunocytochemical stains that recognize *P. carinii* in bronchoalveolar lavage from experimentally induced *P. carinii* pneumonia rats(n=15). In addition to routine stains for diagnosis by morphologic recognition of *P. carinii* on Papanicolaou, GMS and Diff-Quik stains, bronchoalveolar lavage samples were reacted with immunocytochemical stains using monoclonal antibodies(MAB) 092 and 902.

In bronchoalveolar lavage *P. carinii* organisms were detected in 9 of 10 cases (90%) using each MAB 092 and 902, whereas GMS and Diff-Quik stains demonstrated *P. carinii* in 13(86%) and 11(73%) of 15 cases respectively. In lung tissue specimens(n=15) *P. carinii* organisms were well identified on GMS stain and immunohistochemical stains using MAB 092 and 902 in all cases.

We believe that the immunocytochemical staining using MAB 092 and/or 902 is a very useful and diagnostic tool in addition to GMS and Diff-Quik stain to detect *P. carinii* organisms in bronchoalveolar lavage.

Key words: *Pneumocystis carinii*, Gomori methenamine silver, Diff-Quik, Immunocytochemical staining, Bronchoalveolar lavage

서 론

뉴우모시스티스 카리니(*Pneumocystis carinii*) 폐렴의 진단은 환자로부터 채취한 조직에서 뉴우모시스티스 카리니를 형태학적으로 직접 관찰함으로써 이루어진다. 과거에는 주로 개흉 폐생검을 통해 얻은 폐조직에서 진단이 이루어졌다^{1,2)}. 1980년대 이후 뉴우모시스티스 카리니 폐렴이 AIDS 환자에게 빈발하며, 장기이식술을 시행한 환자에서 면역억제요법을 장기간 받은 경우에도 흔히 초래되어 이들 환자에게 개흉술을 함으로써 생기는 부담을 줄이면서 신속히 뉴우모시스티스 카리니 감염여부를 알 수 있도록 객담 등을 이용한 세포학적 진단이 활발히 시도되어 왔다^{1,3,4)}. 또한 굴곡성 기관지경이 개발된후 이를 이용한 경기관지 폐생검, 기관지 세척물 및 기관지 폐포 세정액을 통해서 뉴우모시스티스 카리니 검출은 더욱 용이하게 되었다⁵⁻¹⁰⁾.

뉴우모시스티스 카리니를 검출하기 위해서 세포학적 및 조직학적으로 Giemsa, Gomori methenamine silver(GMS), Diff-Quik등 다양한 염색을 실시하고 있으며, 염색에 따라서 뉴우모시스티스 카리니의 생활사에 따른 특징적인 구조를 잘 관찰할 수 있다^{11,12)}. 폐조직을 통해서 진단하는 경우 세포학적 진단에 비하여 뉴우모시스티스 카리니 검출이 보다 용이하나 시료제작에서 진단에 이르기까지 많은 시간이 소요되므로 폐생검 조직에서 접착도말을 하거나, 객담 또는 기관지 폐포 세정액의 침전물에서 상기한 몇 가지의 염색을 실시함으로써 신속하게 진단할 수 있다^{13,14)}. 그러나 세포학적 도말에서는 폐조직과 달리 뉴우모시스티스 카리니가 산발적으로 흩어져 관찰됨으로 고배율에서 면밀한 관찰이 요구되며 진단하는 데에 많은 시간이 걸린다. 때로는 GMS 염색에서 뉴우모시스티스 카리니의 포낭(cyst)을 진균의 효모나 적혈구와 감별하는 것이 어렵고, Giemsa

또는 Diff-Quik 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니의 영양형(trophozoite)이 혈소판이나 세포 잔해물 등과 감별을 요하는 경우가 흔히 있다¹⁵⁾. 최근 뉴우모시스티스 카리니에 대한 단클론 항체를 사용하여 면역형광법 또는 면역화학적 방법을 실시함으로써 조직 또는 세포진 검체물에서 뉴우모시스티스 카리니 검출을 보다 쉽게 할 수 있게 되었으며 그 진단율도 상당히 높아지고 있다¹⁶⁻²⁰⁾.

저자들은 실험적으로 흰쥐를 사용하여 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 일으킨 후 기관지 폐포 세정액을 채취하여 Papanicolaou, H&E, GMS 및 Diff-Quik 염색과 함께 단클론 항체를 사용한 면역세포화학적 염색을 실시하고, 폐조직에서도 면역조직화학적 염색을 실시하여 이들 염색 소견의 형태학적 특징을 알아보고 뉴우모시스티스 카리니 검출에 있어서 단클론 항체를 사용한 면역세포화학적 염색의 진단적 효용성을 평가해 보고자 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 뉴우모시스티스 카리니 폐렴의 실험적 모델

체중 200~300g 되는 Sprague-Dawley종 흰쥐를 사용하여 덱사메타손 2mg을 마시는 물 1ℓ에 혼합하여 투여하고 저단백식(8%)을 주어 6주가 경과한 후 진신상태가 불량하고 체중감소가 현저한 흰쥐부터 차례로 도살하여 기관지 폐포 세정검사를 실시하고 폐조직을 채취하였다. 폐조직에서 만든 파라핀 블록을 4 μ 로 세절하여 H&E 염색을 실시하고 GMS 염색을 시행한 후 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 확인 할 수 있었던 흰쥐 15마리를 선택하여 연구재료로 사용하였다.

2. 기관지 폐포 세정검사

뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 가진 흰쥐에서 각각 생리식염수를 사용하여 5ml씩 기관 내에 주입한 후 즉시 회수하는 과정을 3회 반복하였다. 채취한 기관지 폐포 세정액으로 cytospin을 시행하여 얻은 도말 슬라이드에 Papanicolaou, H&E, GMS 및 Diff-Quik염색을 실시하였다.

3. 면역세포화학적 염색

기관지 폐포 세정액을 cytospin해서 얻은 도말 슬라이드를 약 10분간 10% 포르말린을 사용하여 고정한 후 계열에탄올로 탈수를 하였다. 내인성 peroxidase의 활성을 차단하기 위하여 30% 과산화수소 1ml에 메탄올 99ml를 혼합하여 만든 용액에서 30분간 처리하고 0.1M 인산염 완충용액으로 수세하였다. 뉴우모시스티스 카리니 항원에 대한 단클론 항체인 092(MAB 092, Biodesign Inc, USA) 및 902(MAB 902, Chemicon Inc, USA)를 사용하여 1:100으로 희석시켜서 37°C에서 2시간 반응시킨 후 인산염 완충용액으로 수세하고 이차 항체인 biotinylated anti-mouse IgG(Vectastain Elite Kit, USA)를 가하여 37°C에서 30분간 방치한 후 인산염 완충용액으로 수세하고, avidin-biotin 혼합용액(ABC Elite Kit, Vector, USA)으로 37°C에서 30분간 작용시켰다. 3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)을 사용하여 10분간 실온에서 발색시킨 후 permount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

4. 면역조직화학적 염색

채취한 폐조직의 파라핀 블록으로부터 4 μ 두께의 절편을 얻어 유리슬라이드에 부착시킨 후 xylene과 계열에탄올을 사용하여 탈 파라핀

과 합수를 하였다. 내인성 peroxidase 차단과정을 거친 후 조직 항원이 잘 노출될 수 있도록 조직절편을 단백분해 효소인 0.4% 펩신을 사용하여 37°C에서 1시간 방치시킨 후 인산염 완충용액으로 수세하였다. 일차 단클론 항체인 092 및 902를 사용하였으며, 기관지 폐포 세정액을 재료로 실시한 면역세포화학적 염색과정과 동일한 과정을 거쳐서 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

결 과

1. 세포학적 소견

뉴우모시스티스 카리니는 Papanicolaou 염색에서 약간 호염기성을 띠며, H&E 염색에서는 에오진에 주로 염색되면서 무정형 포말상 물질의 덩어리 형태로 관찰되었다. 고배율에서 희미하게 미세 낭상구조를 보이면서 그 내부에는 작은 점들이 간혹 포함되었다. GMS 염색에서는 주로 뉴우모시스티스 카리니 포낭의 피막이 잘 염색되어 관찰되었으며 포낭은 둥근 형태, 반월상 또는 바나나 형태등 다양한 모양을 보이며 한 두 개씩 흩어져서 관찰되었다(Fig. 1). 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 가진 흰쥐 15마리중 13마리(86%)에서 GMS 염색상 뉴우모시스티스 카리니의 검출이 가능하였다. Diff-Quik 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니의 영양형이 집단적으로 모여있거나 몇 개씩 흩어져 있었으며 포낭 내에는 포낭내체(intracystic bodies)가 암청색을 띠는 작은 점의 형태로 4~8개가 관찰되었으며 포낭 피막은 무색으로 형태만 관찰되었다(Fig. 2). Diff-Quik 염색결과 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 가진 흰쥐 15마리 중 11마리(73%)에서 영양형 또는 포낭내체가 용이하게 관찰되었으며 나머지 4마리에서 얻은 슬라이드에서는 다양한 세포잔해물, 염증세포

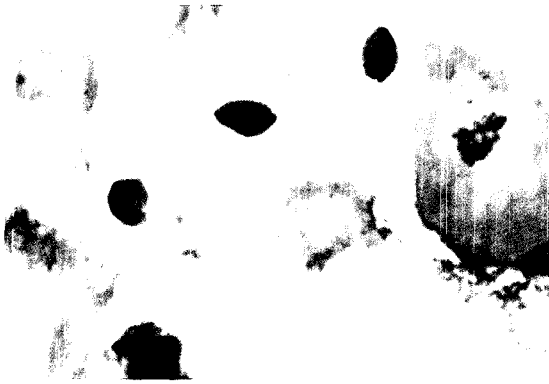


Fig. 1. *Pneumocystis carinii* cysts with round or oval form are scattered on the bronchoalveolar lavage smear(GMS, $\times 1,000$).

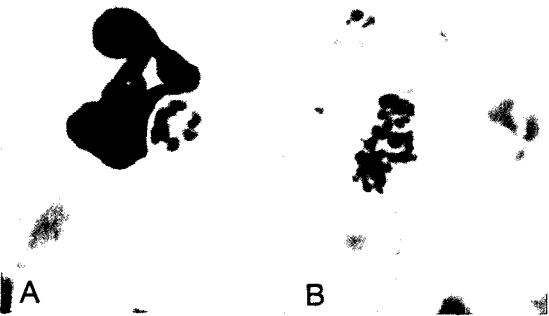


Fig. 2. *Pneumocystis carinii* show a cyst with dark blue stained intracystic bodies and colorless pellicle (A), and aggregated trophozoites(B)(Diff-Quik, A: $\times 1,000$ (original magnification), B: $\times 1,000$).

또는 혈소판 등과 혼합되어 감별이 어려웠다 (Table 1).

2. 면역세포화학적 소견

뉴우모시스티스 카리니의 포낭은 등글거나 반달 형태로 피막이 연한 갈색으로 뚜렷하게 염색되면서 산발적으로 흩어져 있거나 영양형과 섞여서 군집을 이루면서 관찰되었고, 고배율에서는 포낭의 형태를 쉽게 알아볼 수 있었다. 영양형은 대부분 과립성 덩어리 형태로 짙은 갈색을 띠면서 관찰되었고, 간혹 주변의 세포 잔해물과 감별을 요하였다(Fig. 3). 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 가진 흰쥐 10마리중 9마리(90%)에서 면역세포화학적 염색상 뉴우모시스티스 카리니 검출이 가능하였으며, 1마리에서는 주위에 산재된 세포 잔해물과 혼합되어 있어서 뉴우모시스티스 카리니 검출이 곤란하였다. 일차 단클론 항체인 092 및 902에서 뉴우모시스티스 카리니 검출은 모두 용이하였으며 염색의 발현정도가 비슷하였다.

3. 면역조직화학적 소견

뉴우모시스티스 카리니의 포낭 및 영양형이 서로 엉겨 덩어리 형태로 폐포강 또는 폐포관

Table 1. Comparison of *Pneumocystis carinii* detection among GMS, Diff-Quik and immunocytochemical stains

| Comparison items | Stains | GMS | Diff-Quik | ICH |
|-----------------------------|--------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Time required for staining | | Medium | Short | Long |
| Time required for diagnosis | | Medium | Long | Short |
| Sensitivity | | Medium | Low | High |
| Specificity | | Medium | Medium | High |
| Diagnostic rate | | 13/15(86%) | 11/15(73%) | 9/10(90%) |
| Cost | | Low | Medium | High |
| Observation | | Cysts | Trophozoites, intracystic bodies | Trophozoites, cysts |
| Differential diagnosis | | Red blood cells, fungal yeasts | Cell debris, inflammatory cells | Cell debris or desquamated cells |

GMS: Gomori methenamine silver, ICH: immunocytochemistry

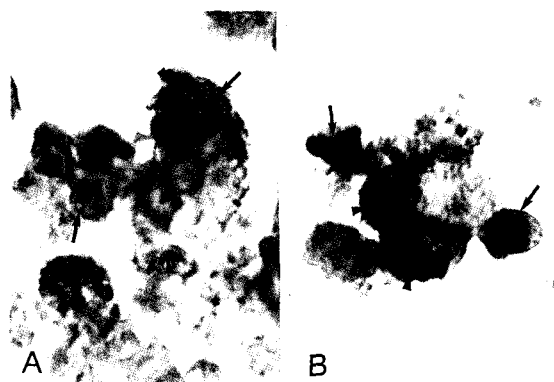


Fig. 3. Cysts(arrows) and trophozoites(arrow heads) of *Pneumocystis carinii* are well identified on immunocytochemical stains for 092(A) and 902(B)(A & B; $\times 1,000$).

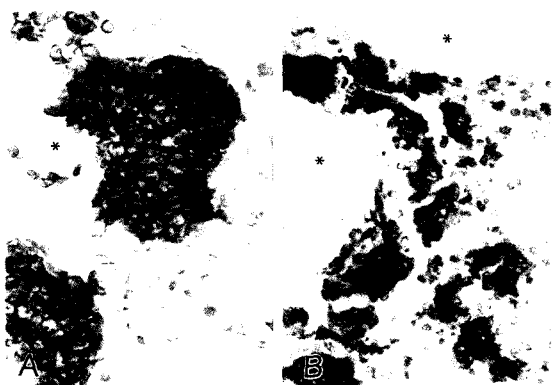


Fig. 4. *Pneumocystis carinii* show aggregated collection in the alveolar spaces(A) or scattered small clusters in the thickened alveolar wall(B). Asterisk: alveolar space(immunohistochemical stain for 902, A & B; $\times 200$).

내에서 진한 갈색을 띠면서 용이하게 관찰되었다(Fig. 4A). H&E염색에서 폐포강 또는 폐포 관내에 무정형 포말상 물질이 관찰되지 않고 비어 있는 예에서도 폐포간질 부위를 중심으로 크고 작은 덩어리 형태의 뉴우모시스티스 카리니군집을 관찰할 수 있었다(Fig. 4B). 간혹 세기관지강 내에서도 그 수가 많지는 않았으

나 뉴우모시스티스 카리니가 관찰되었다. 일차 단클론 항체인 092 및 902의 각각 염색 결과 비슷한 발현 정도를 보여 주었다.

고 찰

각종 면역결핍 환자에서 뉴우모시스티스 카리니 감염을 조기에 찾아 내는 일은 환자의 생존율을 높이는데 있어서 대단히 중요하다. 과거에는 개흉 폐생검을 통해 얻은 폐조직에서 뉴우모시스티스 카리니를 직접 관찰하여 진단이 이루어 졌으나, 최근에는 환자에게 큰 부담을 주지 않고도 객담, 기관지 세척물 또는 기관지 폐포 세정액을 사용하여 뉴우모시스티스 카리니를 직접 검출하는 방법을 많이 시도하고 있다^{5,6,9,21}.

객담, 기관지 세척물 또는 기관지 폐포 세정액을 재료로 세포학적 관찰을 할 때, 통상적으로 사용하는 Papanicolaou 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니가 약간 호염기성을 띠며, H&E 염색에서는 약간 붉게 보이는 무정형의 포말상 물질의 덩어리 형태로 관찰 된다^{10,12}. 고배율에서는 불분명한 다수의 미세 낭상구조를 나타내고 간혹 작은 점들이 낭상 구조 내에서 관찰되나 뉴우모시스티스 카리니의 생활사에 따른 특징적인 영양형 및 포낭을 감별하기는 곤란하다.

GMS나 Diff-Quik염색을 실시하면 뉴우모시스티스 카리니의 생활사에 따른 특징적인 구조를 더욱 뚜렷하게 관찰 할 수 있다. 즉 GMS 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니 포낭의 피막이 검게 잘 염색되고, 흔히 둥근 형태, 반월상 또는 바나나 모양 등 다양한 형태를 보이며 포낭 내에는 간혹 포낭내체가 검은 점으로 간혹 나타남을 관찰 할 수 있다^{12,22,23}. 그러나 GMS염색에서는 영양형을 찾기가 어렵다. 이와 대조적으로 Diff-Quik염색을 하면 뉴우모시스티

스 카리니의 영양형이 집단적으로 모여 있거나 몇 개씩 흩어져서 관찰되며, 포낭내체가 암청색을 띠면서 작은 둥근 점의 형태로 관찰되어 GMS와 Diff-Quik 염색을 같이 시행하면 뉴우모시스티스 카리니의 생활사에 따른 각 구조들을 모두 관찰 할 수 있는 이점이 있다^{12,24}.

GMS 및 Diff-Quik 염색은 뉴우모시스티스 카리니가 다수 존재하는 검체물에서는 쉽게 관찰할 수 있어 실험적 연구 및 임상진단 영역에서 편리하게 사용되고 있으며, 면역세포화학적 방법과 비교해서 진단율에 큰 차이점이 없어 굳이 면역세포화학적 방법을 사용해야 할 필요가 없다. 그러나 뉴우모시스티스 카리니가 드물게 존재하는 검체물에서는 GMS 및 Diff-Quik 염색에서 뉴우모시스티스 카리니를 발견하기가 쉽지 않고 관찰에 많은 시간이 소요된다. 또한 GMS 염색에서는 흔히 뉴우모시스티스 카리니의 포낭이 적혈구 및 각종 진균 효모와 구별이 쉽지 않으며, Diff-Quik 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니의 영양형이 세포 잔해물과 염증세포 등과 감별해야 하는 어려움이 있다^{12,14,23}.

최근 단클론 항체를 사용하여 면역형광법, 면역세포화학 및 면역조직화학적 방법을 뉴우모시스티스 카리니 폐렴의 진단에 적용함으로써 뉴우모시스티스 카리니 검출에 있어서 높은 민감성과 특이성을 가질 수 있다^{16,20,25,26}. 또한 GMS 및 Diff-Quik 염색과 더불어 면역세포화학적 방법을 적용할 경우 뉴우모시스티스 카리니의 검출에 보다 높은 진단율을 얻을 수 있다.

뉴우모시스티스 카리니 검출을 위해 흔히 사용되는 단클론 항체로는 3F6, 2G2, 092, 902 및 904 등을 들 수 있다^{20,25,27,28}. 기관지 폐포 세정액을 사용하여 cytopsin 한 후 도말 슬라이드를 만들거나 세포블록을 만들어서 이들 단클론 항체를 사용하여 면역화학적 염색을 실시하면 편리하게 그리고 신속히 뉴우모시스티

스 카리니를 검출할 수 있다^{25,27,29}. 발색제로 DAB을 사용할 경우 면역세포화학적 염색에서 포낭은 둥글거나 반달 형태로 피막이 연한 갈색으로 뚜렷하게 염색되어 산발적으로 관찰되며, 때로는 영양형과 섞여서 군집을 이루고 있다. 영양형은 대부분 군집을 이루면서 과립성 덩어리로서 짙은 갈색을 띠고 때로는 주변의 세포 잔해물 또는 탈락된 세포들과 감별을 요하는 경우도 있다.

본 연구에서는 단클론 항체로 092와 902를 사용하였고 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 가진 흰쥐 10마리 중 9마리에서 진한 갈색으로 관찰되면서 쉽게 뉴우모시스티스 카리니를 검출할 수 있었으나 한 예에서는 주변의 세포 잔해물과 탈락된 세포 및 침전물 등과 구분이 어려웠다. 그리고 GMS 및 Diff-Quik 염색과 단클론 항체를 사용한 면역세포화학적 염색의 결과를 비교하였을 때 Diff-Quik 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니의 영양형과 포낭내체를 관찰할 수 있었고, 신속하게 염색하여 관찰할 수 있는 이점이 있었으나 때때로 광학현미경 상에서 뉴우모시스티스 카리니를 찾는데 많은 시간이 소요되었고, 세포 잔해물 및 염증세포들과 감별하는데 어려움이 많았으며, 검출율이 상대적으로 낮은 점이 단점으로 생각되었다. GMS 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니의 포낭을 쉽게 관찰할 수 있어서 진단이 매우 용이하였고 검출율도 높은 편이었다. 그러나 영양형은 GMS 염색으로 관찰할 수 없었으며 포낭은 때때로 적혈구나 진균효모 등과 감별을 해야 되었다. 단클론 항체인 092 및 902로 각각 면역세포화학적 염색을 시행한 예에서는 뉴우모시스티스 카리니에 대한 발현의 민감도와 특이도가 상대적으로 높았고 뉴우모시스티스 카리니의 수가 많지 않는 예에서도 비교적 용이하게 도말 슬라이드 상에서 검출할 수 있었다. 그러나 면역세포화학적 염색 과정이 다소 복잡하고, 시간이 많이 소요되며, 검사 비

용이 상대적으로 높아 임상진단에 통상적으로 적용하는 데는 다소 무리가 있을 것으로 생각된다. 뉴우모시스티스 카리니의 검출이 용이하지 않는 예에서나, 뉴우모시스티스 카리니 폐렴이 흔하지 않는 지역에서 타 질환과 감별을 해야 되는 경우에 GMS 및 Diff-Quik 염색과 더불어 면역세포화학적 염색을 선택적으로 시도하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

결 론

저자들은 실험적으로 유도된 뉴우모시스티스 카리니 폐렴을 가진 흰쥐를 대상으로 기관지 폐포 세정액을 재료로 뉴우모시스티스 카리니를 검출하기 위하여 Papanicolaou, GMS 및 Diff-Quik 염색을 실시하였고, 뉴우모시스티스 카리니의 검출율을 높이기 위해 단클론 항체인 092 및 902를 사용하여 면역세포화학적 염색을 시도하였고 GMS 및 Diff-Quik 염색 성적과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Papanicolaou 염색에서는 뉴우모시스티스 카리니가 균집을 이루면서 무정형의 포말상 덩어리 형태로 보이며, GMS 염색에서는 주로 뉴우모시스티스 카리니의 포낭이 관찰되었고 흰쥐 15마리 중 13마리(86%)에서 검출이 가능하였다. Diff-Quik 염색에서는 영양형과 포낭내체가 쉽게 관찰되었으며 전체 15마리 중 11마리(73%)에서 검출이 가능하였다. 면역세포화학적 염색을 실시하였을 때 흰쥐 10마리 중 9마리(90%)에서 포낭 및 영양형이 모두 관찰되었고, GMS 및 Diff-Quik 염색에서 관찰이 어려웠던 예에서도 비교적 용이하게 뉴우모시스티스 카리니를 관찰할 수 있었다. 단클론 항체인 092 및 902사이에서는 면역화학적 염색의 발현 정도가 비슷하게 나타났다.

따라서 단클론 항체인 092 또는 902를 사용하여 기관지 폐포 세정액을 재료로 면역세포

화학적 염색을 실시하면 뉴우모시스티스 카리니를 보다 용이하게 관찰할 수 있으며 통상적으로 사용하는 GMS 및 Diff-Quik 염색과 더불어 적용할 경우 더욱 높은 검출율을 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 특히 뉴우모시스티스 카리니의 수가 적게 포함된 예에서도 용이하게 검출이 가능하여 뉴우모시스티스 카리니 폐렴의 임상진단에 면역세포화학적 방법을 유용하게 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Hughes WT: Pneumocystis carinii pneumonia. *N Engl J Med* 297:1381-1383, 1997
2. Schultz JC, Ross SW, Abernathy RS: Diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia in an adult with survival. *Am Rev Respir Dis* 93:943-945, 1966
3. Bigby TD, Margolskee D, Curtis JL, 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* 133:515-518, 1986
4. Pitchenik A E, Ganjei P, Torres A, et al: Sputum examination for the diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am Rev Respir Dis* 133:226-229, 1986
5. Blumenfeld W, Wagar E, Hadley WK: Use of the transbronchial biopsy for diagnosis of opportunistic pulmonary infections in acquired immunodeficiency syndrome(AIDS). *Am J Clin Pathol* 81:1-5, 1984
6. Broadus C, Dake MD, Stulbarg MS, et al: Bronchoalveolar lavage and transbronchial biopsy for the diagnosis of pulmonary infections in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 102:747-752, 1985
7. Coleman DL, Dodek PM, Luce JM, et al: Diagnostic utility of fiberoptic bronchoscopy in patients with Pneumocystis carinii pneumonia and the acquired immune deficiency syndrome. *Am Rev Respir Dis* 128:795-799, 1983
8. Gal AA, Klatt EC, Koss MN, et al: The effectiveness of bronchoscopy in the diagnosis of Pneumo-

- cystis carinii and cytomegalovirus pulmonary infection in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 111:238-241, 1987
9. Ognibene FP, Shelhamer J, Gill V, et al: The diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome using subsegmental bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 129:929-932, 1984.
 10. Rorat E, Garcia RL, Skolom J: Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by cytologic examination of bronchial washings. *JAMA* 254:1950-1951, 1985
 11. Pintozzi RL, Blecka LJ, Nanos S: The morphologic identification of *Pneumocystis carinii*. *Acta Cytol* 23:35-39, 1979
 12. 권건영, 윤철희, 김상표, 박관규, 장은숙: *Pneumocystis carinii* 폐렴의 기관지 폐포 세정액: 세포학적 및 전자현미경적 소견. *대한세포병리학회지* 5:1-9, 1994.
 13. Martin WJ, Smith TF, Brutinel WM, Cockerill FR, Douglas WW: Role of bronchoalveolar lavage in the assessment of opportunistic pulmonary infections: Utility and complications. *Mayo Clin Proc* 62:549-557, 1987
 14. Bedrossian CWM, Mason MR, Gupta PK: Rapid cytologic diagnosis of *Pneumocystis carinii*: A comparison of effective techniques. *Semin Diagn Pathol* 6:245-261, 1989
 15. Walzer PD, Young LS: Clinical relevance of animal models of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2:1-6, 1984
 16. Blumenfeld W, Kovacs JA: Use of a monoclonal antibody to detect *Pneumocystis carinii* in induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid by immunoperoxidase staining. *Arch Pathol Lab Med* 112:1233-1236, 1988
 17. Kovacs JA, Gill V, Swan JC, et al: Prospective evaluation of a monoclonal antibody in diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Lancet* 2:1-4, 1986
 18. Linder E, Lundin L, Vorms H: Detection of *Pneumocystis carinii* in lung-derived samples using monoclonal antibodies to an 82-kda parasite component. *J Immunol Methods* 98:57-62, 1987
 19. Elvin K: Laboratory diagnosis and occurrence of *Pneumocystis carinii*. *Scand J Infect Dis Suppl* 94:1-34, 1994
 20. Wazir JF, Macrorie SG, Coleman DV: Evaluation of the sensitivity, specificity, and predictive value of monoclonal antibody 3F6 for the detection of *Pneumocystis carinii* pneumonia in bronchoalveolar lavage specimens and induced sputum. *Cytopathology* 5:82-89, 1994
 21. Golden JA, Hollander H, Stulberg MS, Gamsu G: Bronchoalveolar lavage as the exclusive diagnostic modality for *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Chest* 90:18-22, 1986
 22. Rotaeche JG, Costabel U: Bronchoalveolar Lavage in Diagnostic Cytology. In *Compendium on Diagnostic Cytology*. Edited by Wied GL, et al. Chicago, Tutorial of Cytology, 1992, pp 251-265
 23. Watts JC, Chandle FW: *Pneumocystis carinii* pneumonia: The nature and diagnostic significance of methenamine silver-positive "intracystic" bodies. *Am J Surg Pathol* 9:744-751, 1995
 24. deBlois GG: Use of the Diff-Quik stain on transbronchial biopsy imprints as a rapid diagnostic procedure for identification of *Pneumocystis carinii*. *Am J Clin Pathol* 85:385, 1986
 25. Radio SJ, Hansen S, Goldsmith J, Linden J: Immunohistochemistry of *Pneumocystis carinii* infection. *Mod Pathol* 3:462-468, 1990
 26. Gori S, Paladini A, Paoletti P, Del Bono L, Scasso A: Laboratory diagnosis of *Pneumocystis carinii*: comparison of cytological, immunofluorescent and immunocytochemical staining. *Pathologica* 84:225-233, 1992
 27. Cartun RW, Lachman MF, Pedersen CA, Cole SR, Kovacs JA: Immunoperoxidase localization of *Pneumocystis carinii* in formalin fixed, paraffin embedded tissue with monoclonal antibody 2G2. *J Histochemol* 13:117-120, 1990
 28. Lachman MF, Cartun RW, Pedersen CA, Cole SR: Immunocytochemical identification of *Pneumocystis carinii* formalin fixed paraffin-embedded tissues. *Lab Med* 21:808-810, 1990
 29. Elvin KM, Bjorkman A, Linder E, Heurlin N, Hjerpe A: *Pneumocystis carinii* pneumonia: Detection of parasites in sputum and bronchoalveolar lavage fluid by monoclonal antibodies. *Br Med J* 297:381-384, 1988