

## DSP 칩과 최적분별법을 이용한 새로운 혈구입자 계수기 설계

○김 규학, 김 중원, 김 근섭, 홍완희, 김 성환

서울 시립 대학교 전자공학과

### A New Design of Blood Cell Counter using DSP chip and Optimal Discrimination Method

○G.H.Kim, J.W.Kim, K.S.Kim, W.H.Hong, S.H.Kim  
Dept. of Electronics Engineering, Seoul City Univ.

#### - Abstract -

The purpose of this reserch is to design the blood cell counting instrument which can measure the number of RBC(Red Blood Cell) and WBC(White Blood Cell) including many other blood component.

The proposed method uses the electrical impedance method and the new discrimination method with DSP chip and software algorithm. The system consist of control unit, blood cell discrimination unit, hemoglobin spectrometer, post detection processor unit, and IBM-PC interface unit.

In this paper, the discrimination system has been implemented using digital signal processor, which result in the reduction of system hardware and cost.

The system is helpful in providing necessary clinical test for screen test and quality control of hematology.

## 1. 서 론

오늘날 마이크로프로세서의 발달과 의학기술의 향상 그리고 계산 업무의 증대로 혈액검사방법은 자동화가 되어 신속성, 정밀도 및 정확도가 우수하게 되어가고 있다.[1]

혈액성분의 분석 방법은 매우 다양하나 보통 매크로(Macro)방법, 마이크로(Micro)방법, 전자식(Electronic method)으로 할 수 있다. 매크로 또는 마이크로법은 전열을 원심분리시켜 각성분의 비를 측정한다. 전자식에서는 전기저항(Electrical resistance)법, 빛산란(scattering)법이 있는데 이는 각세포의 크기나 전기적 전도현상을 이용하여 측정하는 방법과 광원에 대한 입자산란을 photo detector로 측정하는 방법이다.[2][3] 전기저항법은 혈구가 좁은 구멍(aperuure)을 지나면 전기저항의 변화를 일으키는데 이것을 전압파(voltage pulse)로 인지

하여 계수하는 전압파 계수방법(예: Coulter counter S-IV, Celloscope 1260)으로서 이것은 정확한 양의 흡입(suction)이 요구되고 Aperture에 찌꺼기(clogging)가 문제시 되며 빛 산란법은 광원에 따른 산란의 제한과 측정 기술을 요하며 측정 비용이 비싼단점이 있다.[4][5][6]

혈구입자를 처음으로 측정하였는 Van Leeuwenhce에 의해 17C에 시작되었다. 그후 19C까지 현미경으로 Counting chamber를 통해 혈구입자를 측정하다가 1934년에 Moldavan이 광전소자(Photo electric device)로 측정용 시도하였으며 1953년에는 광전효과 방법으로 FEL-Counter를 제작하였다.[7] 1956년 coulter는 적혈구를 전기전도 현상을 이용한 자동혈구입자 카운터를 개발하였다.[8] 최근에는 백혈구의 하분류(Subclassification), 적혈구의 혈색소 농도, 혈소판의 크기분포를 포함하는 기술을 이용하여 입자들에 대한 정확하고 상세한 정보를 제공하는 방법이 진행되었다.[9]

본 논문에서는 전기저항 측정방법에 의한 혈구입자계수 시스템을 설계제작하고, 하나의 Aperture만을 이용하여 적혈구, 백혈구, 혈소판 측정을 가능하게 하는 방법을 제시하였다. 특히 본 연구에서는 지금까지는 Aperture를 통과하는 입자들이 임피던스 변화에 따라 생성되는 펄스들의 정확한 구별에 많은 회로가 부가되는 부담을 고속 A/D변환기와 고속디지털 신호처리프로세서를 이용하여 줄일 수 있는 방법을 제시하였으며, 소프트웨어 알고리즘에 의하여 더욱 정확한 입자분별 방법을 보였다.

## 2. 시스템 구성 및 실험방법

### 2-1 하드웨어 구성

혈구입자 검출을 위한 하드웨어는 그림1과 같이 크게 다섯 부분으로 나누었다. 각 알고리즘을 수행하고 분별 시스템을 동작시키기 위한 I/O 역할을 담당하는 중앙처리장치와 알고리즘을 program memory에 저장시키고, 수행 결과를 저장하여 IBM-PC에 전송하기위한 인터페이스



시스템이 초기화되고 volumetric의 레이저 다이오드에서 start 신호를 동기부 B10가 0로 되면 입자를 count하기 위한 프로그램이 실행된다. 데이터 버스상에 Da 버스를 TMS320C25가 polling하고 있다가 threshold이 하가 되면 입자의 펄스가 종료되는것으로 간주하며 이신호를 동기부 로 데이터 수집을 중지하고 TMS320C25의 data memory로 전송한다. 전송된 data는 program memory의 알고리즘에 의하여 다음과 같은 절차에 따라 수행한다.

### I. 문턱치 조절

혈구입자 종류에 따른 threshold level 이 각기 다르다. 적혈구의 체적은 80-200(fl), 혈소판은 2-20(fl)이기 때문에 적혈구와 백혈구는 A/D변환기 분해능의 30%, 혈소판은 2%를 threshold로 설정하였다.

### II. 펄스폭 계수

Pulse width count의 의미는 백혈구 count에서만 이용되는데 입자의 크기를 펄스의 amplitude에만 의존하였던 종래의 방법과는 달리 펄스의 width에 따른 differential count에 size뿐 아니라 shade 정보를 주어 비정상 분포를 쉽게 알 수 있게 해준다. 수집된 data값이 pulse width가 된다.

### III. 최대치 분류

혈구입자의 Maximum peak는 pulse height analyzer에서 각 channel에 해당하는 빈도수로서 히스토그램을 그리게 되므로 수집된 데이터중 maximum치를 sorting 하는것이 필요하다.

### IV. 편집

입자들의 대다수는 전해질의 흐름에 의해 aperture의 중심부에 힘을 받게된다. 이곳이 maximum sensing 지역이고 axial pathway라 부른다. 이러한 종류의 흐름은 입자들의 sensing zone에서의 외한계를 나타낸 것이다. 입자들이 aperture 가장자리에 밀접하게 통과하는 non-axial pathway라한다. Sensing zone의 균일한 전기장 영역으로 통과하지 못하기때문에 펄스 모양이 다소 왜곡되는데 펄스의 최대크기는 입자체적에 반대시 비례하지 못하게된다. Non-axial흐름의 효과를 극복하고 측정 정확도를 향상 시키기 위하여 펄스폭에 대한 높이의 비에서 관점을 갖는 펄스 editor를 만들어낸다.

### V. 보정

만약 sensing zone내에 동시에 두개 이상의 입자가 있게될때 장비는 실제로 계산되어지는 것수보다 더 적게 검지되는 결과를 갖게될 것이다. 이를 해결하기 위하여 최대 maximum치의 30%이상에서의 최대 peak치와 secondary peak를 검사하여 보정시켜준다. [11]

## 3. 실험결과 및 고찰

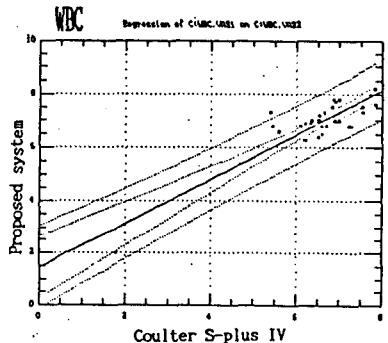
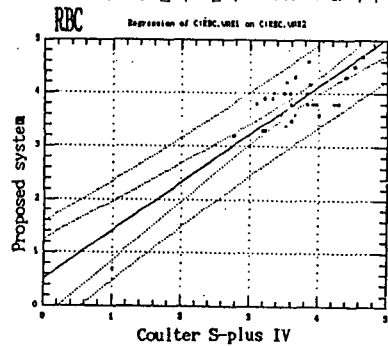
본 연구에서는 혈액속 RBC는 1:49999, WBC는 1:499의 비로 희석시킨뒤 전기저항법에 의하여 0.5ml의 양을 정확히 aperture를 통과시켜 혈구입자의 종류 및 크기는

discriminator board에서 담당하고 혈색소양은 hemoglobin board에서 측정하였다.

실험에 사용한 샘플(sample)은 무작위(random)로 추출하였다. 실험결과를 비교분석하기 위하여 couler 카운터와 비교하여 통계처리된 데이터 값들을 표1에 나타내었다. 표1에서 비교하여보면 분산, 표준편차, 변이계수는 RBC, WBC, Hgb의 경우 거의 두측정법에서 유사한 값을 나타내었다. 두변수의 측정값 사이 관계를 이해하는데 쉬운 방법으로 직선회귀방법을 이용하여 실제로 측정된 두 측정값 사이에 상관 관계를 다음의 그림4의 그래프 I, II, III와 같이 나타내었다. 결정계수가 100%이면 완벽한 직선관계에 있다. 그래프 I은 측정된 적혈구의 수와 couler의 적혈구 측정값에 대한 상관 관계를 보여준다. 그래프 II는 백혈구의 수를 비교한 것이고 그래프 III는 Hgb를 측정한것을 비교하여 나타내었다. 모두 관계가 단일하고 직선적임을 알 수 있다. 그래프 I은 결정계수가 86.3%, 그래프 II는 78%, 그래프 III는 87.3%임을 알 수 있다.

	RBC( $10^9/l$ )		WBC( $10^3/\mu l$ )		Hgb(g/dl)	
	본연구	couler	본연구	couler	본연구	couler
평균값	3.94	3.78	7.03	6.68	11.83	11.99
최대	5.3	4.97	8.2	7.87	15.19	16.3
최소	1.2	1.28	6.2	5.45	3.6	4.0
범위	4.1	3.69	2.0	2.42	12.3	12.3
분산	0.44	0.44	0.24	0.37	3.78	4.04
표준편차	0.66	0.67	0.49	0.62	1.94	2.01
변이계수	16.73	17.72	6.97	9.28	16.4	16.76

표 1. 본시스템과 couler S+IV와의 비교



## 4. 결 론

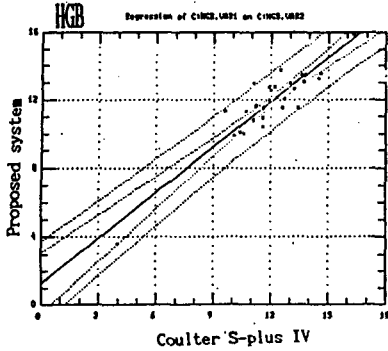


그림4. 본 시스템과 Coulter S·IV의 상관 관계

그림5는 정상인에 대해서 pulse height analyzer에 의한 three-in-one 히스토그램과 pulse width해석에 따른 백혈구상을 보여주고 있으며 파라미터 연산 결과도 같이 보였다. Three-in-one 히스토그램은 amplitude에 따른 volume을 x축, 펄스 빈도수에 따른 수를 y축으로 표시하여 나타내었고 백혈구상은 volume을 x축 펄스의 width에 따른 mobility계수를 y축으로 표시하여 나타내었다. 위 데이터 분석에서 알 수 있듯이 같은 원리의 전기저항법을 이용한 시스템에서의 측정값이 비슷하였음을 알 수 있으나 coulter와 비교하면 약간의 오차가 있다. 본 논문에서 설계제작한 시스템의 오차원인을 살펴보면 다음과 같다. Aperture의 전류 밀도가 일정한 실린더 저항으로 가정하였으나 실험결과 얻은 데이터에서는 aperture를 통과하는 전류밀도의 불균일, 전해질의 이동 속도 차이로 파형의 왜곡현상을 가져와서 실제 count오차를 생기게 되었다. 또한 펄스는 입자의 잔해(debris), 진공도의 불안정, 전기적 간섭, 회석의 불균일로 인하여 가펄스를 만들어내어 측정오차를 가져오게하였다. 또한 메카니즘의 정밀성이 요구되는 volumetric부나 aperture부의 세척작용도 systemic error를 가져오게 되는데 clogging의 해결은 무엇보다도 중요하다. Pulse height analyzer histogram의 discrimination level이나 three-in-one histogram의 mobility factor는 많은 임상 실험을 통하여 통계적으로 결정할 수 있도록 고려하여야 한다.

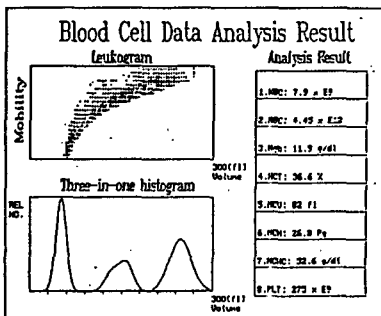


그림5. 정상인의 실험결과

본 연구에서는 제안된 혈구입자 정보처리 시스템을 통하여 회석된 혈액세포들을 가지고 실험하여 적혈구, 백혈구, 혈소판, 혈색소량, 혈구형장비율, 적혈구지수(MCV, MCH, MCHC)등을 측정하고 분별 및 연산하여 IBM-PC에 결과를 저장하고 보여 주었다. 설계제작된 혈구입자 정보처리 시스템은 다음과 같은 유용성을 향상 시켰다.

1) 하나의 Aperture 시스템으로 설계되어 여러개의 Aperture 시스템에서 요구되는 mechanism을 단순화 하였고, 복수의 Aperture에서 최대 신호 입력치를 갖는 장점을 상대적으로 디지털 신호처리함으로써 해결하였다.

2) 제시된 소프트웨어 알고리즘에 의하여 더욱 정확한 입자 분별을하여 전체 측정변수에 대한 오차를 줄일 수 있었다.

3) 종래에는 적혈구, 백혈구, 혈소판 각각에 대한 회로가 부가되는것을 고속 A/D 변환기와 디지털 신호처리프로세서 사용 이용함으로써 회로 부담을 줄일 수 있었다.

4) IBM-PC와 인터페이스 시켜 측정된 혈구입자 결과를 쉽게 볼 수 있고 저장에 용이하여 편리성을 향상시켰다.

5) 혈액 샘플들을 본 논문에서 제안한 시스템과 Coulter counter S·IV에서 측정한 결과 모든 측정 파라미터에 대해서도 0.91보다 큰 상관계수를 갖으며 적격 검사(screen test)의 유의 수준보다 적은 ±7% 이내의 오차를 유지하였다.

그러나 정밀한 Volumetric측정, 정교한 Mechanism이 요구되는 본 측정장치에서 시스템의 불안정은 비정상 오차를 유발하였다.

제안된 시스템은 입자분별의 실시간 monitoring이 가능하고, 동물세포나 마크로(macro) 입자분별에도 용이하며 부유물질의 입자분석등 화학분석에도 많은 이용이 있으리라 기대된다.

## 참 고 문 헌

- [1] M.G.Nelson, "Cell counting instrument: A comparative study. In G.Izak and S.M.Lewis(Eds.), Modern concepts in Hematology, New York: Academic Press, p.201, 1972
- [2] P.J.Crosland Taylor, J.W.Stewart, and G.Haggis, "An electronic blood cell counting machine," Blood, 13:398, 1958.
- [3]D.H.Tycko, M.H.Metz, E.A.Epstein, and A.Grinbaum, "Flowcytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration," Appl.Opt., 24:1355, 1985.
- [4] P.J.Crosland Taylor, "A device for counting small particles suspended in a fluid through a tube. Nature(London), 171:37, 1953.

- [5] W.Groner, "Specification of calibration, control and reference materials for cell counting and sizing apparatus," In O.W.Van Assendelft and J.M.England(Eds.), Advances in Hematological Methods: The Blood Count, Boca Raton, FL: CRC Press, pp.185-195, 1982.
- [6] J.Berkson, T.B.Magath, and M.Hurn, "The error of estimate of the blood cell count as made with the hemocytometer," Am.J.Physiol., 128: 309, 1939.
- [7] M.Bessis, Living Blood Cells and Their Ultrastructure, Berlin and New York : Springer-Verlag , 1973.
- [8] W.H.Coulter, "High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer," Proc.Natl. Electron .Conf., 12:1034, 1956.
- [9] A.R.Jones and A.M.Saunders, "Identification and enumeration of blood cells, : In R.Schmidt(Ed.), CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science, Sect.1, Vol.2, Boca Raton, FL: CRC Press, p.91, 1980
- [10] TMS320C25 User's Guide. Texas Instruments Inc. 1987.
- [11] J.R.Hodkinson, "Coincidence and overlap errors in the automatic counting and sizing of particles," Nature(London), 171: 351, 1953.