

원주응집법을 이용한 혈액형 검사 판독기의 개발 및 평가

Development and Evaluation of the Reader for Blood Typing using Column Agglutination Method

김진*, 전우람*, 박승우**, 이창률***, 이다현***, 최인택***, 김주연***, 서인범***
한림대학교 정보전자공과대학 컴퓨터공학과*, 강원대학교 의학전문대학원 신경외과**, 진단검사의학교실***

Jin Kim(jinkim@hallym.ac.kr)*, Wooram Jeon(jwr@hallym.ac.kr)*,
Seoung Woo Park(nsped@kangwon.ac.kr)**, Chang Youl Lee(doclcy@hallym.or.kr)**,
Da-Hyeon Lee(shine4020@daum.net)***, In-Taek Choi(intaxi@kangwon.ac.kr)***,
Ju Yeon Kim(piruna81@naver.com)***, In Bum Suh(bloodmd@kangwon.ac.kr)***

요약

안전한 수혈을 위한 정확한 혈액형 검사는 필수적이다. 최근에는 혈액은행 검사 분야에 검사의 오류를 줄이고 검사의 효율을 높이기 위해 자동화 장비가 도입되어 사용되고 있으나 중소병원에서 이용하기에는 매우 고가로 도입하기가 어렵다. 이에 본 연구에서는 혈액형 검사결과를 저장 및 재확인 할 수 있고, 이미지 프로세싱에 의해 결과가 판독되는 원주응집법을 이용한 혈액형 검사 판독기를 개발하였다. ABO 및 RhD 혈액형 검사가 의뢰된 148개의 검체와 비예기항체 검사가 의뢰된 154개의 검체를 대상으로 판독 결과를 비교한 결과, 양성과 음성의 판독 및 반응강도의 판독이 100% 일치하였다. 본 연구에서 개발된 판독기는 추가적인 검증을 거친다면 중소형 병원에서도 쉽게 도입하여 효율적이며, 경제적으로 이용할 수 있을 것이다.

■ 중심어 : | 혈액형 | 원주응집법 | 리더기 | 비예기항체 |

Abstract

Accurate blood typing tests are essential for safe blood transfusion. Recently many automated test equipments have been introduced to reduce errors and increase the efficiency of the test. However, those equipments being high in price, it is difficult to introduce automated test equipment for every hospital. In this study, we developed a reader for blood typing using column agglutination test. In the process, the results, read out by the image processing, are stored and reaffirmed. To evaluate the reader, 148 samples for ABO and RhD blood typing tests and 154 samples for unexpected antibody test were used. The positive and negative intensity of the reading and the reading of the reaction were 100% in agreement with the result of traditional manual method. If additional verification is completed, this reader can be efficiently and economically used in small-and medium-sized hospitals.

■ keyword : | Blood Type | Column Agglutination | Reader | Unexpected Antibody |

I. 서론

안전한 수혈을 위해 헌혈자 및 환자 혈액의 정확한

검사는 필수적이다. 적혈구에는 500여개 이상의 항원 [1]이 알려져 있으며, 임상적으로 의미있는 혈액형 항원 20여개 중, 항원의 수 및 강도가 가장 높은 ABO 및

접수일자 : 2014년 02월 10일

수정일자 : 2014년 02월 26일

심사완료일 : 2014년 02월 27일

교신저자 : 서인범, e-mail : bloodmd@kangwon.ac.kr

RhD 혈액형이 제일 중요하다[2]. ABO 또는 RhD 부적합 수혈의 경우에는 급성 용혈성 부작용이 일어나게 되고 사망을 초래하기도 한다. ABO 및 RhD 혈액형 외에도 임상적으로 의미가 있는 혈액형 항원을 검사하기 위해 비예기항체(unexpected antibody) 선별검사를 시행한다[2].

혈액은행에서 시행하는 ABO 및 Rh 혈액형 검사는 환자의 적혈구와 항-A, 항-B, 항-D 항체를 반응시켜 검사하는 혈구형 검사와 환자의 혈청을 A1 적혈구 및 B 적혈구와 반응시키는 혈청형 검사로 되어 있다. 검사 방법은 슬라이드나 시험관 및 원주응집법[3]을 이용한 수기법이 있으며, 최근에는 원주응집법 또는 플레이트를 이용한 자동화 방법[4]이 소개되고 있다.

비예기항체 선별검사는 임상적으로 의의가 있는 비예기항체의 유무를 판정하는 검사로 비예기항체는 ABO 혈액형 이외의 혈액형 항체로서 임신이나 수혈 등 타인의 혈액형 항원에 노출된 후 생성된 항체[2]로 검사를 해야만 구별을 할 수 있다. 과거에는 슬라이드나 시험관을 이용한 수기법으로 검사를 시행하였으나 결과 판독이 객관적인 것으로 알려진 원주응집법으로 대체 되고 있으며, 최근에는 원주응집법을 이용한 자동화 방법이 소개되고 있다[4].

원주응집법은 적혈구와 항체를 반응시켜 희석액을 포함하는 미세입자를 통하여 원심분리시키면 응집이 일어난 적혈구는 상부에 포착되지만 응집이 일어나지 않은 적혈구는 하단에 가라앉은 원리를 이용하는 검사로 전통적인 방법에 비하여 간단하고 표준화된 검사방법으로 객관적인 판독이 가능하다는 장점이 있다[5].

이러한 방법들은 모두 수기법으로 시행되고 있어 검사시행 및 결과판독, 입력오류 등의 실수를 초래할 수 있음에도 불구하고 경제적, 기술적인 이유로 다른 분야에 비해 자동화가 늦게 진행되었다. 그러나, 최근 혈액은행 분야에서도 다양한 장비가 연구, 개발 되어 국외에서 널리 사용 중이며[6][7] 국내에서도 사무적 오류를 예방하고, 증대되는 혈액은행 업무를 해소시켜 검사의 효율을 높이기 위하여 자동화 장비를 도입하고 있는 추세이다[8][9]. 혈액은행에서 자동화장비를 이용한 방법은 표준화된 절차 및 방법으로 검사가 진행되어 검사

결과가 정확하고 특히 대량의 검사가 진행되는 검사실에서는 노동력이 절감되고 동시에 많은 검사를 실시할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 자동화장비는 매우 고가로 중소형 병원이나 검사실에서는 도입하기가 어렵다.

혈액은행 검사 결과는 환자의 생명과도 직결될 수 있는 매우 중요한 검사로서 오류를 줄이기 위해 검사시행시 서로 다른 검사자가 각각 검사를 시행하고 각각 검사결과를 입력하여 일치될 경우에만 결과가 보고되도록 되어 있는데 자동화장비를 이용할 경우, 검사의 오류를 방지할 수 있으며 자동화 장비와 한명의 검사자가 검사 결과를 입력하게 되면 노동력을 절감할 수 있는 장점도 있다.

이에 본 연구에서는 중소형 병원에서 일반적인 화상 카메라를 이용하여 원주응집법에 의한 검사 결과를 캡처하여 화상을 컴퓨터에 저장하여 추후, 검사결과를 재확인 할 수 있고 캡처된 화상을 이미지 프로세싱에 의해 결과를 판독하여 판독된 결과를 혈액은행 컴퓨터에 자동으로 입력되는 검사 판독기를 개발하여 평가하고자 하였다.

II. 본 론

1. 연구 방법

1.1 원주응집법의 원리 및 판독

국내에서는 주로 DiaMed (Murten, Switzerland)사와 Ortho (Ortho Diagnostic Systems Inc., USA)사의 원주응집법을 이용한 검사 키트가 이용되고 있다. 원주응집법이 이루어지는 카세트는 세 부분으로 나뉘어져 있는데 상부의 방은 혈청과 적혈구의 응집이 일어나는 곳이고, 하부는 원추형 바닥을 가진 통이며, 그 중간에는 작은 입자들이 들어 있어 원침에 의하여 응집의 유무와 정도를 관찰할 수 있다. 결과는 [그림 1]과 같이 응집이 강할 경우, 적혈구가 아래로 내려가지 않고 위에만 남아 있게 되어 4+로 표시하고 응집이 전혀 없을 경우, 적혈구가 원침에 의해 완전히 내려가게 되어 -로 표시하며, 중간단계는 3+, 2+, 1+, trace로 총 6단계로 판독

하도록 되어 있다.

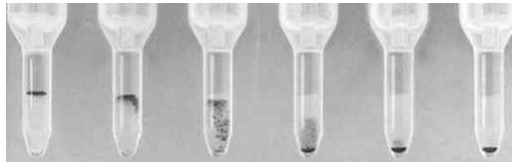


그림 1. 원주응집법 검사 판독
(4+, 3+, 2+, 1+, trace, -)

1.2 원주응집법 판독기의 고안

국내에서 이용되는 원주응집기를 위한 리더기는 소형 박스안에 빛이 들어가지 않도록 하고 시중에서 구입한 LED 램프와 HD급 1600만화소의 화상캠(HDCAM-1600UVC, 크라이저사)을 이용하여 화상을 컴퓨터에 저장하도록 하였다. 화상이 저장되면 이미지프로세싱 프로그램이 자동으로 구동된다. 이미지프로세싱 프로그램은 초기 사용시 원주응집기의 종류에 따라 초기 보정 작업을 하도록 하여 반응이 -로 적혈구가 완전히 가라앉은 영역을 역삼각형으로 지정해 주고 반응이 4+인 카트리지 영역의 적혈구를 직사각형으로 지정해주게 되면 나머지 중간영역이 자동으로 5등분되어 화상분석이 진행된다.

1.3 원주응집법 판독기의 평가

원주응집법 판독기를 평가하기 위해 ABO 및 Rh 혈액형검사와 비예기항체검사가 의뢰된 혈액은행의 검체를 이용하였다.

Polyspecific AHG 카세트(anti-IgG and -C3d, BioVue, Ortho Diagnostic Systems Inc., USA)를 이용하여 LISS 40 μ l와 3 \pm 1% 환자의 적혈구 부유액 또는 적혈구부유액인 Search-Cyte I, II (Dade Behring Inc., USA) 각각을 10 μ l씩 넣고 항-A, 항-B, 항-D 항체 또는 환자혈청 40 μ l를 첨가하고 37°C에서 10분 간 반응시킨 후 Ortho BioVue 원심분리기를 이용하여 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 각 카세트는 육안과 원주응집법 판독기로 동시에 분석하여 결과를 비교하였다.

2. 연구 결과

2.1 원주응집법 판독기

원주응집기를 위한 리더기는 카세트를 주입구에 삽입하고 화상캠의 스위치를 누르게 되면 자동으로 화상이 저장되고 이미지 프로세싱 프로그램이 자동으로 구동된다. 구동된 이미지 프로세싱 프로그램을 4+, 3+, 2+, 1+, trace 결과의 원주응집 카세트를 대상으로 일치된 결과가 나오도록 최적화 하였다.

이미지 프로세싱 분석 프로그램은 Visual Studio 2010 환경의 MFC와 오픈소스 영상처리 라이브러리인 Open CV를 사용하여 구현하였다.

2.2 원주응집법 판독기의 평가

ABO 및 RhD 혈액형이 의뢰된 총 148 검체 중 A형은 48 검체, B형은 47 검체, O형은 38 검체 및 AB형은 15 검체였고, RhD 검사에서는 양성 147 검체 및 음성 1 검체였다. 수기법으로 판독한 결과와 원주응집법 판독기를 이용한 결과 모두 100% 일치율을 보였다[표 1][표 2]. 결과의 반응강도는 양성인 경우는 모두 4+를 보여 양성 및 음성으로만 판정하였다.

표 1. ABO 혈액형의 판독 결과 비교

ABO 혈액형		판독기				Total
		A	B	O	AB	
수기법	A	48				48
	B		47			47
	O			38		38
	AB				15	15
Total		48	47	38	15	148

표 2. RhD 혈액형의 판독 결과 비교

RhD 혈액형		판독기		Total
		양성	음성	
수기법	양성	147		147
	음성		1	1
	Total	147	1	148

비예기항체검사가 의뢰된 총 154 검체를 원주응집법으로 시행한 결과 양성을 보인 검체는 24, 음성을 보인 검체는 130 검체였다. 수기법과 판독기 검사 결과를 비교해본 결과 역시 100% 일치율을 보였다[표 3].

표 3. 비예기항체검사의 판독 결과 비교

비예기항체		판독기		
		양성	음성	Total
수기법	양성	24		24
	음성		130	130
	Total	24	130	154

비예기항체검사 결과 양성으로 보인 검체 24개에 대하여 각 카세트별 반응 강도를 비교한 결과 48개 카세트에 대하여 100% 일치율을 보였다[표 4].

표 4. 비예기항체검사의 판독 결과 비교

비예기항체	판독기					Total
	+/-	1+	2+	3+	4+	
수기법	+/-	5				5
	1+		18			18
	2+			15		15
	3+				8	8
	4+					2
	Total	5	18		8	2

III. 고찰 및 결론

수혈에 있어서 ABO 및 RhD 혈액형검사는 가장 중요하며 기본이 되는 검사이다. ABO 혈액형항원은 부적합 수혈시에 급성용혈수혈부작용이 발생할 수 있어 임상적으로 매우 중요한 의미를 갖는다[2]. RhD 항원도 면역원성이 높아 음성인 사람이 수혈 또는 임신에 의해 RhD 양성 적혈구에 노출되면 동종 항체를 생성[10]할 가능성이 높아지며, 생성된 항체는 심한 신생아용혈질환 또는 용혈성 수혈부작용을 유발할 수 있다[11]. ABO 및 RhD 혈액형 외에도 임상적으로 의미가 있는 혈액형 항원을 검사하기 위해 비예기항체 선별검사를 시행[12]한다.

ABO 및 RhD 혈액형검사 및 비예기항체검사는 비교적 간단한 검사이지만 검사 단계 과정에서 다양한 오류가 발생할 수 있으며 그런 실수는 환자의 생명과도 직결될 수 있다.

원주응집법은 1984년 처음 개발되어 1988년 상품화되었으며, 일정한 크기의 카트리지에 6개의 칼럼이 들어있어 6가지 시험을 동시에 하고 그 결과를 비교할 수

있도록 고안되어 있다[5]. 원주응집법을 이용한 검사법은 방법이 쉽고 표준화되어 있으며 반응결과가 비교적 안정되어 있고, 검사시에 세척과정이 필요없는 등 전통적인 방법에 비해 여러 가지 장점을 가지고 있어 비예기항체검사에 많이 사용되고 있다[4].

혈액형 검사 방법들은 대부분 수기법으로 시행되고 있는데 검사시행 및 결과판독, 입력오류 등의 실수를 초래할 수 있음에도 불구하고 경제적, 기술적인 이유로 다른 분야에 비해 자동화가 늦게 진행되었다.

최근에는 원주응집법의 사용과 함께 다양한 자동화 장비가 연구, 개발 되어 국내에서도 사무적 오류를 예방하고, 노동력이 절감되는 등 장점이 많아 대형병원을 중심으로 검사의 효율을 높이기 위하여 자동화 장비를 도입하고 있는 추세이다.

그러나 중소형 병원에서는 검사 건수에 비해 장비의 가격이 매우 고가이므로 도입하기가 쉽지 않다. 본 연구에서는 대형화 장비에 일부 포함되어 있는 결과 판독 방법을 소형화하고 회사 마다 차이가 있는 여러 종류의 원주응집법을 하나의 판독기에서 결과를 얻을 수 있는 리더기를 개발하였고 임상 검체를 대상으로 분석한 결과, 100%의 일치율을 보였다. 추가적으로 본 연구에서는 한 개 회사의 원주응집법에서만 평가해 보았는데 광범위한 활용을 위해서는 여러회사의 원주응집법에도 적용하여 안전성을 평가하는 것이 필요하다.

본 연구에서 개발된 판독기는 검사실의 컴퓨터에 USB로 연결하여 편리하게 사용할 수 있어 추가적인 검증은 거친다면 중소형 병원에서도 쉽게 도입하여 효율적이며, 경제적으로 이용할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

[1] J. R. Storry, L. Castilho, G. Daniels, W. A. Flegel, G. Garratty, and C. L. Francis, "International Society of Blood Transfusion Working Party on red cell immunogenetics and blood group terminology: Berlin report," Vox Sang, Vol.101, No.1, pp.77-82, 2011.

[2] 한규섭, 박명희, 김상인, *수혈의학 3판*, 고려의학, 2006.

[3] Y. Lapierre, D. Rigal, J. Adam, D. Josef, F. Meyer, and S. Greber, "The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions," *Transfusion*, Vol.30, pp.109-113, 1990.

[4] W. Malomgré and B. Neumeister, "Recent and future trends in blood group typing," *Anal Bioanal Chem*, Vol.393, pp.1443-1451, 2009.

[5] K. J. Reis, R. Chachowski, A. Cupido, D. Davies, J. Jakway, and T. M. Setcavage, "Column agglutination technology: the antiglobulin test," *Transfusion*, Vol.33, No.8, pp.639-643, 1993.

[6] M. Bajpai, R. Kaur, and E. Gupta, "Automation in immunohematology," *Asian J Transfus Sci*, Vol.6, No.2, pp.140-144, 2012.

[7] H. Schoenfeld, K. Bulling, C. von Heymann, B. Neuner, U. Kalus, and H. Kiesewetter, "Evaluation of immunohematologic routine methods using the new erythrocyte-magnetized technology on the QWALYS 2 system," *Transfusion*, Vol.49, No.7, pp.1347-1352, 2009.

[8] G. R. Choi, B. K. Min, H. N. Kim, C. H. Cho, Y. H. Kim, and J. Y. Choi, "Evaluation of the automated instrument QWALYS-3 for unexpected antibody screening," *Korean J Blood Transfus*, Vol.22, pp.38-45, 2011.

[9] Y. H. Ko, J. M. Kim, S. H. Koo, J. Lim, Y. C. Park, and K. C. Kwon, "Evaluation of the automated QWALYS-3 system for ABO and RhD grouping and unexpected antibody screening," *Korean J Blood Transfus*, Vol.22, pp.144-150, 2011.

[10] M. U. Heim, M. Böck, H. J. Kolb, M. Schleuning, and W. Mempel, "Intravenous anti-D gammaglobulin for the prevention of rhesus isoimmunization caused by platelet transfusions in patients with malignant

diseases," *Vox Sang*, Vol.62, No.3, pp.165-168, 1992.

[11] P. Gurevich, S. Erina, S. Gershon, and I. Zusman, "The role of the fetal immune system in the pathogenesis of RhD-hemolytic disease of newborns," *Hum Antibodies*, Vol.9, No.2, pp.76-89, 1997.

[12] D. R. Anderson, J. Wiseman, J. MacLeod, E. Burton, and E. Zayed, "Evaluation of polyethylene terephthalate for ABO and Rh typing and alloantibody screening," *Transfusion*, Vol.40, No.6, pp.669-672, 2000.

저 자 소 개

김 진(Jin Kim)

정회원



- 1984년 2월 : 고려대학교 물리학과(이학사)
- 1990년 2월 : Michigan State University, Computer Science (공학석사)
- 1996년 2월 : Michigan State University, Computer Science(공학박사)

- 1997년 3월 ~ 2000년 8월 : 건국대학교 전산과학과 교수
 - 2000년 9월 ~ 현재 : 한림대학교 컴퓨터공학과 교수
- <관심분야> : 생물정보학, 영상처리, 알고리즘

전 우 람(Wooram Jeon)

준회원



- 2014년 2월 : 한림대학교 컴퓨터공학과(석사)
- 2014년 2월 ~ 현재 : 한림대학교 컴퓨터공학과(박사)

- <관심분야> : 생물정보학, 영상처리, 알고리즘

박 승 우(Seoung Woo Park)

정회원



- 1989년 2월 : 연세대학교 의과대학(의학사)
- 2000년 2월 : 아주대학교 의과대학 신경외과(의학석사)
- 2004년 2월 : 아주대학교 의과대학 신경외과(의학박사)

▪ 2002년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 의학전문대학원 교수
 <관심분야> : 신경외과학, 멀티미디어

김 주 연(Ju Yeon Kim)

정회원



- 2007년 2월 : 고려대학교 의과대학(의학사)
- 2010년 8월 : 고려대학교 대학원 의학과(의학석사)
- 2012년 3월 ~ 2012년 7월 : 고려대학교병원 임상강사

▪ 2012년 8월 ~ 2013년 7월 : 강원대학교병원 임상강사
 ▪ 2013년 8월 ~ 현재 : 강원대학교병원 임상전임강사
 <관심분야> : 수혈의학, 혈액학, 미생물학

이 창 룰(Chang Youl Lee)

정회원

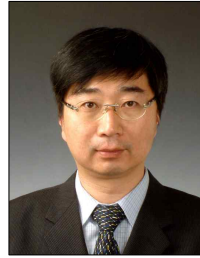


- 1998년 2월 : 연세대학교 의과대학(의학사)
- 2002년 8월 : 연세대학교 의과대학(의학석사)
- 2011년 2월 : 강원대학교 의과대학(의학박사수료)

▪ 2007년 6월 ~ 현재 : 한림대학교 의학대학 교수
 <관심분야> : 호흡기내과, 멀티미디어

서 인 범(In Bum Suh)

정회원



- 1992년 2월 : 고려대학교 의과대학(의학사)
- 1999년 9월 : 고려대학교 의과대학(의학석사)
- 2002년 3월 : 고려대학교 의과대학(의학박사)

▪ 2002년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 의학전문대학원 교수
 ▪ 2008년 2월 ~ 현재 : (주)대한임상의학센터 대표이사
 <관심분야> : 진단검사의학, 멀티미디어

이 다 현(Da-Hyeon Lee)

정회원



- 2012년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 대학원 의학과(박사과정)
- 2011년 8월 : 강원대학교 교육대학원(교육학석사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 무용학과 외래교수

<관심분야> : 진단검사의학, 멀티미디어

최 인 택(In-Taek Choi)

정회원



- 2012년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 대학원 의학과(박사과정)
- 2012년 2월 : 강원대학교 대학원 의학과(의학석사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 광주대학교 보건의료관리학과 외래교수

<관심분야> : 진단검사의학, 멀티미디어