

개의 정액검사 및 인공수정

신상태*

I. 정액검사의 필요성

최근 애완동물 특히 애완견의 수요가 급증함에 따라 수개(stud dog)의 수태능력에 대한 검진요청이 빈발하고 있다. 수개의 정액검사는 불임의 유무와 원인을 판정하는 주요한 지표로서 종견의 매매전 검사, 의심되는 종견의 수태가능성 판정, 구입이 어렵거나 희귀한 품종의 번식에 소요되는 시간, 노력 및 경비를 절감하기 위해 이용된다.

수개에서 가장 흔한 불임의 원인은 감염성으로 세균성 고환염, *Brucella canis* 감염을 포함한 부고환염, 섹호선염 등은 정자의 형태적 변화를 초래한다. 서혜헤르니아에 따른 정관의 종장, 양측성 精液水腫 또는 생식기도 종양 등은 정상적인 정자형성이 이루어지더라도 정자의 사출을 방해함으로써 불임을 유발한다. Klinefelter's syndrome(XXY)과 같은 間性은 항상 불임이고 陰率는 유전적이며 양측성일 경우 불임이 된다. 내분비장애를 일으키는 요인으로는 혈중 thyroxine의 저하, Sertoli cell tumor 또는 Leydig cell tumor 등이 있다.

무정자증, 정자감소증(총정자수 100×10^6 이하) 및 총정자수는 정상이나 고율(20% 이상)의 不動 또는 형태적 異狀 정자를 함유한 경우에는 항상 불임이거나 수태율이 극도로 저하된다. 더우기 우리나라의 애완견은 아직 종견의 수가 매우 부족한 실정이므로 심한 근친번식에 따른 번식장애 발생가능성이 높을 것으로 추정된다.

정액의 채취 및 검진은 수개의 전반적인 번식성진단에 필수불가결한 부분중의 하나이다. 따라서 어떠한 원인으로든 일단 수태에 실패한 수개는 가능한 빠른 시일내에 정액검사를 받아야 한다.

II. 인공수정의 필요성

개에서 최초의 인공수정은 1870년경 Italy의 S. pallanzani에 의해 성공되었으나 소, 돼지 등 산업동물에서와는 달리 경제적 가치가 낮고 수태율을 향상시킬 수 있는 적절한 방법이 고안되지 못해 근래까지도 그리 환영받지 못하였으며 연구도 미진하였다. 그러나 최근 구미제국에서 개의 인공수정과 정액의 보존(특히 동결정액의 보존)에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있으며 애완견과 토종견에 대한 관심과 수요가 날로 증가, 다양화되고 있는 우리나라에서는 그 필요성이 절실해질 것으로 기대된다.

개의 인공수정이 요구되는 경우는 다음의 몇 가지를 들 수 있다.

1. 암캐에서의 교미장애

미경산견 특히 비교적 어리거나 왜소한 암캐에서는 외음부 및 질전정이 충분히 확장되지 않으므로 교미시 심한 통증으로 인해 교미행위를 회피하게 되며 감수성이 예민한 개체는 그 심리적 충격으로 수개를 계속 거부할 가능성이 있다.

간혹 축주가 선택한 수개를 거부하고 자기나름대로의 sexual partner를 선택하려는 암캐도 있

* 충남대학교 수의과대학

고, 예민하고 신경질적이거나 공격적인 기질을 가진 개중에는 수캐를 전면적으로 거부하는 경우도 있다. 또한 자연교미시 크게 문제가 되는 각종 형태의 만성질염으로 인한 수태성의 저하는 인공수정을 통해 극복할 수 있다.

2. 수캐에서의 교미장애

다양한 형태의 교미불능(impotence)과 관련이 있다. 주로 늙은 개에서 등과 후지가 허약하거나 뻣뻣하다든지 통증이 있을때 교미행위가 불가능해진다. 소형견 특히 Dachshund나 Pekingesse와 같이 다리가 짧은 품종에서는 연령에 관계없이 일반적으로 교미자체가 어려운 경향이 있다. 개에서도 심리적 형태의 교미불능이 있다. 일시적인 수줍음이나 성교 무경험에 의해 성욕결핍이 일어난다. 반면 너무 강한 성욕으로 인해 교미전에 습관적으로 음경이 과도히 발기되어 교미가 불가능한 경우도 있다.

3. 지리적 여건이나 기타의 장애물에 의한 합사불능

몇가지를 제외한 대부분의 품종에서 국가간, 지역간에 유전형질을 교류함으로써 번식능력을 향상시키고 품종을 개량시킬 수 있다. 이 경우 동물의 이동에는 운송, 검역 등 복잡하고 까다로운 문제가 야기되지만 정액(특히 동결정액)만을 이동시킨다면 이러한 절차를 간소화시킬 수 있다.

Ⅲ. 정액의 채취와 검사

수캐의 번식능력을 검정하기 위해서는 1) 정액의 채취와 검사에 필요한 장비, 2) 요령과 경험, 3) 검사에 충분한 시간 등이 필요하다.

1. 장 비

- 1) 인공질(없어도 무방)
- 2) 눈금이 매겨진 plastic 원심분리관 또는 정액채취관.
- 3) 소형의 인큐베이터 및 정자검사용 항온판
- 4) 일회용 실험기자재(피펫, 슬라이드, 커버글라스, 비늘장갑 등)
- 5) 쌍안현미경(위상차현미경이 좋음), 40~100

배.

- 6) 혈구계산판, 백혈구 희석용 피펫. counter.
- 7) 정자 염색액

2. 종견의 검사

검사대상견은 정액검사전에 최소한 4일이상 금욕시켜야 하며 금욕기간이 2개월 이상된 개나 정확한 판정을 위해서는 7~10일 간격으로 3회 이상 검진하여야 믿을 만한 결과를 얻을 수 있다.

동물병원은 개의 입장에서 보면 매우 낯설고 두려운 곳이므로 정액의 채취가 곤란하거나 射精液의 質에 영향을 채취때가 많다. 따라서 정액채취가 힘든 개는 추체 및 검사를 사육자의 집이나 개장에서 실시하는 것이 좋다. 그러나 대부분의 수캐는 동물병원내에서 정액채취가 가능하므로 검사대상견이 긴장을 풀고 시술자에 대한 신뢰감이 형성되도록 시간적 여유를 충분히 갖고 실시해야 한다.

검사대상견의 나이, 품종, 번식회수, 수태율, 평균산자수, 불임암개중 다른 종견과 교미후 임신된 수 등을 기록하고 가능하다면 부모 및 자손의 번식기록도 문의한다. 병력 특히 식욕절폐 또는 고열이 있었던 시기, 고환염 또는 포피나 고환을 자주 빨았던 시기, 후지파행, 상해(특히 투견후) 유무, 예방접종기록, Brucella Canis 혈청검사결과 등을 기록한다.

교미지속시간(copulatory tie)의 길이와 근래의 시간의 변화를 기록한다. 종견들의 교미지속시간은 나이가 들수록 점차 감소되며 갑자기 감소된 경우가 아니면 걱정할 필요는 없다. 정액검사를 받은 경험유무와 결과도 알아둔다.

정액검사 이전에 외부생식기를 신중히 검사해야 한다. 부두러운 목소리와 체스처로 개를 안심시키며 접근한다. 축주나 조수로 하여금 개관으로 보정하도록 한다. 먼저 고환의 크기 硬度, 유착, 촉감 등을 검사한다. 이때 축주에게 음낭 피부가 심하게 줄어들거나 두꺼워진적이 없었는가, 음낭의 형태, 색깔 또는 크기에 변화가 있었던 것은 없는가 물어본다. 다음에는 포피를 통해 음경을 촉진하면서 포피구에서 나오는 분비물의 양을 체크한다. 개의 음경을 부드럽게

노출시키면서 음경표면에 유착, 상처, 반흔, 탈색 또는 반점이 없이 건강하고 밝은 pink색을 띄고 있는지 검사한다. 최근 삭뇨과정(micturition process)에 어떤 변화가 없었는지 문진한다.

3. 정액채취

정액채취 장소는 조용하고 안온한 별실이 좋다. 먼저 장비의 유무와 가온정도를 확인한다. 정액채취중에는 전화나 사람들의 출입이 없도록 통제한다. 가능하다면 검사대상결과 크기가 비슷한 발정중의 암개가 있으면 정액채취가 용이해진다.

양호한 정액sample을 얻기 위해서는 견고한 발판이 반드시 필요하다. 뒷발이 미끄러지거나 발판이 흔들리면 적절한 pelvic thrust를 나타내지 못하므로 고무매트 등을 깔아주는 것이 제일 좋다. 고무매트를 펴고 그위로 암개를 끌고 와서 보정한다. 암개가 반항하지 못하도록 마스크나 굴레를 씌우고 주저앉지 않게 단단히 보정한다. 준비가 되었으면 수캐를 끈을 짧게 잡고 방으로 데려온다. 이때 수캐가 배뇨하지 못하도록 해야 하는데 그 이유는 배뇨하게 되면 射精液속에 오줌이 섞인 우려가 있기 때문이다. 수캐가 들어와 암개의 냄새를 맡으면 몇방울의 射精液이 떨어지고 이것이 요도를 세척해주는 역할을 한다. 암개가 승가를 강하게 거부하면 수캐의 머리를 암개의 품무니에서 약간 떨어진 곳에 두고 정액채취를 실시한다.

인공질과 정액채취관은 보온병이나 시술자의 품안에 넣어 보온한다. 포피를 통해 손가락으로 개의 음경을 맞사야지 하여 자극한다. 음경이 40~50% 정도 발기되었을때 포피를 귀두부(bulbus glandis)뒤까지 밀어내어 음경을 완전히 노출시킨다. 만약 음경이 50%이상 발기되도록 두면 포피를 귀두구 뒤로 밀어 내기가 어려운데 그럴 때는 수캐를 끌고 나와 안정시킨후 재차 시도하도록 한다. 특히 젊은 개일수록 포피의 발육이 충분하지 않고 쉽게 흥분하므로 주의해야 한다. 일단 음경을 완전히 노출시켰으면 인공질을 귀두구까지 완전히 씌운다. 한손을 수캐의 가랑이 사이로 넣어 인공질 위에서 엄지와 인지로 귀두구를 둥글게 감싸 꺾으면서 아래쪽으로 간절적

으로 눌러 교미자극을 준다. 다른 손으로 원심분리관을 잡고 사출되는 정액을 관찰한다.

개의 사정액은 3분획으로 나눌 수 있다. 초기분획은 0.5~2ml정도의 약간 혼탁하거나 맑은 수양성 액체로서 정자의 함량이 매우 희소하다. 두번째 분획은 pelvic thrust동작이 연속되면서 배출되는 정자가 풍부히 함유된 부분으로 0.5~6ml정도이며 점도가 높은 유백색이다. 마지막 분획은 개체에 따라 2~40ml정도로 다양하며 맑고 수양성이며 정자수도 희박하다. 건강한 개에서 射精이 시작된후 각 분획의 배출에 걸리는 시간은 각각 2~20초(분획 I), 30초~2분(분획 II) 및 5~45분(분획 III)이다.

첫번째, 분획의 끝에서 부터 마지막 분획이 시작될 무렵까지의 정액만을 채취한다. 검사견의 射精패턴을 관찰, 기록한다.

4. 정액검사

채취한 정액이 cold shock을 입지 않도록 검사에 필요한 모든 기구는 반드시 30~35℃를 유지하도록 하되 37℃이상 되지 않도록 신중을 기한다. 개의 정자는 cold shock보다는 고열에 매우 민감하다. 만약 실내온도가 낮은 방에서 정액을 이동시킬 때는 채취관을 시술자의 손으로 감싸쥐거나 보온병 속에 넣어 운반한다. 먼저 정자의 운동성을 검사한다.

가온된 pasteur피펫을 이용하여 원정액 또는 2.9% sodium citrate (in saline)액으로 1 : 10희석한 희석정액 한방울을 가온된 슬라이드 글라스 위에 떨어 뜨리고 가온된 커버글라스로 덮어 100배의 현미경하에서 정자의 운동성을 관찰한다. 정자의 운동성은 운동속도에 따라 0~5까지의 범위를 정하고 빠른 속도로 시야를 통과하는 정자를 5, 움직임이 전혀 없는 정자를 0으로 한다.

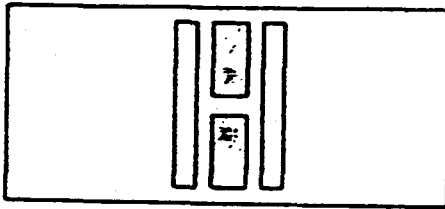
정자의 운동성은 운동속도 5를 가진 정자의 수가 80~85%이상 되어야 양호한 수태율을 얻을 수 있다. 정자의 운동성이 70%이하인 경우는 드물며 대개 병적상태(예 : canine burucellosis)이거나 취급부주의 때문에 일어난다. 정자의 운동성은 정액을 채취할 직후 신속히 실시하여야 하며 검사후 바로 기록한다.

표 1. 개의 정액성상

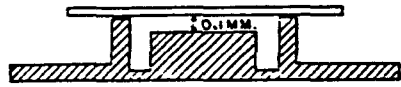
Reference	Collection Technique	Number of Dogs (collections)	From 1	From 2	From 1+2	From 3	Total	Percentage of Progressive Motility		Sperm Numbers × 10 ⁶ (per ml) ejaculate		Percentage of Morphologic Abnormalities			pH
								Normal	Primary	Secondary	Normal	Primary	Secondary		
Amann, in press															
	10-34 # AV	30			2.4+0.3					209+42	400				
	35-59 # AV	53			3.9+0.5					359+72	1120				
	60-84 # AV	32			5.4+1.3					228+58	1430				
Boucher et al., 1958															
	AV without teaser	5(14)					2.0-8.5	0-40		4.2-130.6	13-965	73-94			6.3-6.9
	Hand manipulation without teaser	9(37)					1.8-16.5	60-90		2.5-246.4	5.4-966	77-98			6.23-6.95
	Hand manipulation with teaser	15(74)					0.5-20.4	30-90		27.2-388.8	93.1-1427	34-97			6.49-7.10
	Initial trial	(65)	0.25-2.8	0.4-2.0			1.1-16.3								
Chatterjee et al., 1976															
	Normal masturbation 90						0.2-22	50-100		30-570	9-5940	74.5-96	02	NR	6.4-6.9
	Vasectomized, masturbation	39					0.2-10	0-40		10-95	9-300	29.5-88	14.0	65.75	6.6-6.9
Heywood and Sorwell, 1971															
	AV	6(41)					0.3-8.0	20-100		4-276	2.1-591	0-97			
James et al., 1979															
	AV	8					2.8-3.4	40-80		57-164	154-449	90-97			
Schutte and Beuzidenhout, 1965															
	AV	16			1.5-11.5										
Scager, 1972															
	AV	5	0.25-2.0	0.5-4.0	3.0-25.0	3.75-31.0		75-99		103-708					5.5-6.5
Taha et al., 1981															
	Masturbation	5					3.8-10.15	70-82		207-608	173-310	84-91			
Wildt et al., 1982															
	Outbred AV	14					3.2	66.0		69.6+34	366+98				
	Inbred AV	4					1.9	23.4		17.6+15	117+31				



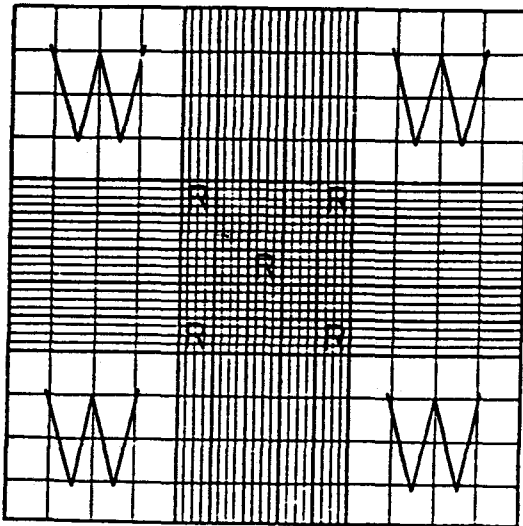
백혈구 회석용 피펫



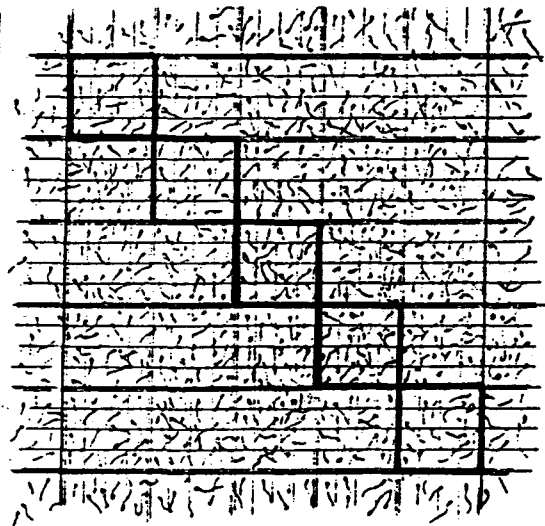
Top view



Side view



1MM



Center grid

그림 1. 회석용 피펫과 혈구계산판.

두번째, 정액의 량, pH 및 색깔을 검사한다. 양질의 정액은 유백색이나 황색을 띠면 오줌이 그리고 붉은색 또는 갈색을 띠면 혈액이나 혈색소가 혼입된 것을 의미한다.

pH paper위에 소량의 정액을 떨어 뜨려 pH를 측정한다. 단지 교미장애 때문에 인공수정시켜야 할 경우라면 이 두가지 검사가 끝난 즉시 인공수정 시킨다. 정액은 반드시 현미경검사를 실시한후 주입해야 한다. 간단한 형태검사를 병행하고 채취후 10분이내에 인공수정시키면 높은 수태율을 얻을수 있다.

세번째, 정자수를 산정한다.

정액이 담긴 채취관을 parafilm으로 막은 다음 3~4회 뒤집어 골고루 섞이게 한다. 정자수의

계산은 백혈구 회석용 피펫과 혈구계산판을 이용한다. 회석액으로는 완충 formalin액이나 생리식염수를 사용한다. 생리식염수로 회석했을 때는 회석용 피펫의 reservoir부분에 뜨거운 물줄기를 1분정도 흘려서 정자를 사멸시킨다. 회석방법은 백혈구회석시와 동일하게 하고 숫자는 적혈구계산시와 동일한 방법으로 센다(그림 1).

정자수 계산공식은 다음과 같다.

$$N(\text{센 정자수}) \times 20(1 : 20\text{회석}) \times 10(\text{깊이 } 0.1\text{mm}) \times 5(\frac{1}{2} \text{ of } \text{mm}^2) = N \times 10^3 / \mu\text{l} = N \times 10^6 / \text{ml}$$

Sample 수가 많으면 coulter counter 또는 spectrophotometer를 이용할 수 있다. 수태가능한 총 정자수는 200×10^6 이상이어야 하며 100×10^6 이

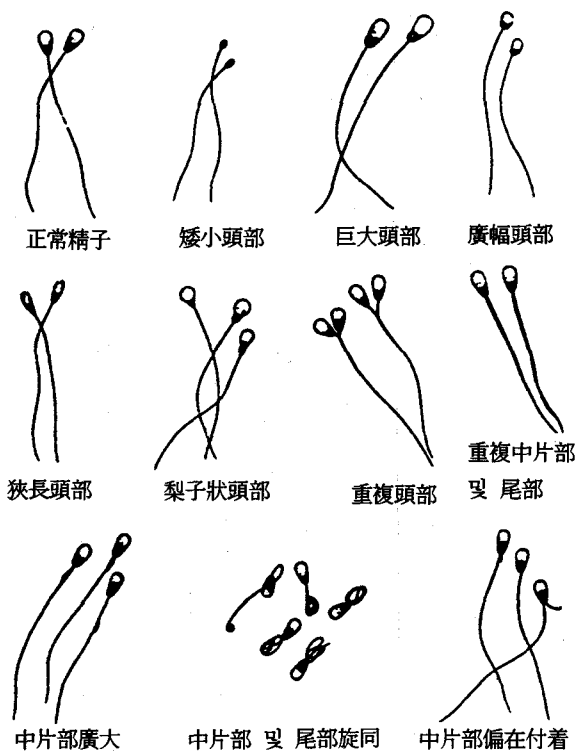


그림 2. 1차 정자기형.

하일 경우 불임으로 판정한다.

네번째, 정자의 형태를 검사한다.

정자검사에서 일반적으로 시행되는 생사감별은 별 의미가 없으며 정자의 운동성 검사를 정확히 실시함으로써 커버할 수 있다. 정자의 형태를 검사하기 위해 eosin-nigrosine 염색 또는 c-asa-rette 염색을 사용한다(조충호 저 獸醫産科學 참조). 원정액 또는 희석정액을 얇게 도말염색한다. 염색한 슬라이드는 1,000배의 현미경하에서 500개 이상을 검사하고 頭部の 모양, 尖體, 結尾, 近位 또는 遠位細胞質小滴 및 中片部와 尾部的 結尾 등의 발생을 기록한다.

기형정자는 정자생산부위(고환)의 장애로 일어나는 1차 기형과 부고환이하의 생식기도의 장애나 취급부주의로 인해 나타나는 2차 기형이 있다(그림 2,3) 尾部旋回와 頭部の 遊離는 음낭에 염증이 있을때 가장 빠르고 일반적으로 나타나는 현상이다. 기형정자의 발생율이 20% 이상 일 때는 수태율이 감소되거나 불임으로 된다.

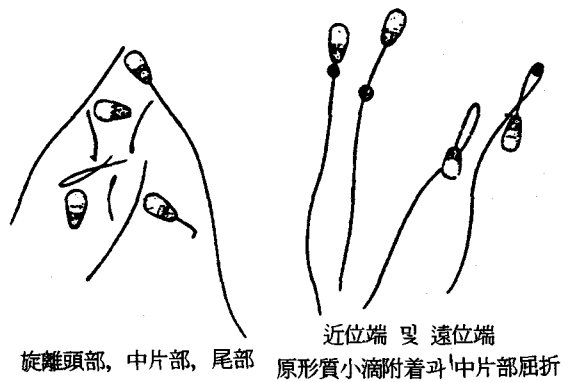


그림 3. 2차 정자기형.

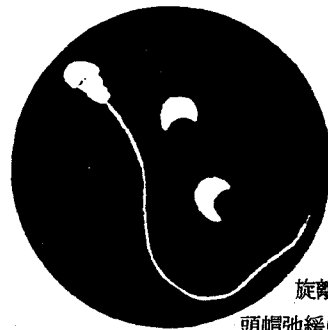


그림 3. 2차 정자기형.

형태학적 결손이 있는 정자가 다량 나타나는 불임증의 경우에는 반드시 선택배양의 세균배양을 실시한다. 세균감염이 있더라도 사정액내에 염증세포가 항상 나타나는 것은 아니기 때문이다.

*Brucella canis*에 걸린 수캐는 기형정자율이 매우 높고(30~80%), 정자운동성이 심하게 감소되며 정액내에 호중구와 단구 그리고 때때로 head-to-head sperm agglutination이 관찰된다.

IV. 인공수정

교미장으로 인한 경우에는 채취후 원정액을 즉시 주입시키면 되나 여러마리에 수정시켜야할 경우에는 정자의 농도에 따라 통상 3~5배 정도로 희석하여 사용한다.

정액을 보존하고자 할때에는 반드시 희석시켜 보존한다. 48시간 이내의 냉장보존에는 skin milk extender를, 3~7일간의 냉장보존에는 egg yol-

표 2 냉장보존용 개 정액희석액

Citrate-Bicarbonate-Egg Yolk Extender:100ml aqueous solution containing citric acid monohydrate(0.07gm), sodium bicarbonate(0.17gm), sodium citrate dihydrate(1.16gm), potassium chloride(0.03gm), glycine(0.75gm), glucose(0.24gm), egg yolk(20 ml);**pH**6.8,308mOsm/kg(Foote, 1964a;Province et al., 1984)

Caprogen Egg Yolk Extender:100ml aqueous solution containing sodium citrate dihydrate(1.56gm), glycine(0.78gm), glucose(0.23gm), N-caproic acid(1.0ml of 2.5% solution), catalase(1.0ml of 45mg% solution), egg yolk(20ml);**pH**7.0,326 mOsm;bubbled with nitrogen gas immediately before use(Province et al., 1984)

Tris-buffered Egg Yolk Extender:100ml aqueous solution containing 2.4gm tris base(tham), 1.3g citric acid monohydrate, 1gm fructose, 3.8ml glycerol, 20% egg yolk(Gill et al., 1970)

Skim Milk Extender:Skim milk heated at 95°C for 10min, then cooled;**pH**6.5,277mOsm(Province et al., 1984)

Low-Fat Milk Extender:Sterilized homogenized milk with 2% fat(Christiansen, 1984)

Citrate-Egg Yolk Extender:Sodium citrate, 2.9% solution(80%) and egg yolk(20%)(Christiansen, 1984)

* Dilution rates used were 1 part semen to 3 to 10 parts extender at 23~35°C, with subsequent cooling to 5°C over a 2-to 3-hr period.

Antibiotics typically added are 1000I.U. penicillin and 1mg dihydrostreptomycin per ml.

표 3 동결보존용 개 정액희석액

(1ℓ 용)

Component	Foote, 1964b	Province et al., 1984	Yubi et al., 1987	Morton, 1987
Tris base	30.3gm	24.4gm	29gm	30gm
Citric acid	16.9gm	13.6gm	13.2gm	17gm
Fructose	-	-	12.5gm	12.5gm
Glucose	12.5gm	8.2gm	-	-
Glycerol	100ml	30ml	80ml	80ml
Egg yolk	+	200ml	+	+
Penicillin	10 ⁶ IU	5×10 ⁵ IU	-	-
Streptomycin	1.0gm	1.0gm	-	-
Crystamycin	-	-	-	1.6gm
D.D.D.Water**	1000ml(qs)	1000ml(qs)	1000 ml	1000ml(qs)
* Egg yolk(replacing buffer volume for volume)	200ml(v/v)(20%)		200ml(v/v)(20%)	150ml(v/v)(15%)

* Also Olar, 1984;Fromam et al., 1984.

** Double-distilled water.

k extender를 그리고 냉동보존시에는 동결보호제가 함유된 동결용 extender를 사용하는 것이 좋다(표 2, 3).

현재 냉동정액을 이용한 인공수정수태율은 자연교미수태율과 비교하여 소, 돼지, 양 및 개에서 각각 90%, 70%, 70% 및 40% 수준으로 개에서는 다른 동물에 비해 훨씬 저조한 실정

이다. 따라서 현재 임상수의사들이 실제로 이용 가능한 냉장보존정액의 인공수정에 관해 기술한다.

검사가 끝난 정액은 정자농도에 따라 적절한 희석비율을 결정하여 정액에 35°C로 가온한 희석액을 서서히 혼합하는 방법으로 희석한다.

희석된 정액은 멸균된 시험관이나 작은 병에

표 4. 미국 애완견협회(AKC)승인 개 동결정액 취급처

ANIMAL REPRODUCTIVE SERVICES, INC. 1501 FM 2818 Suite 304 College Station, TX 77840 (409)693-2842	INTERNATIONAL CANINE SEMEN BANK OF OHIO 34910 Center Ridge Road North Ridgeville, OH 44039 (216)327-8282
CANINE CRYOBANK 845 Via de la Paz Pacific Palisades, CA 90272 (213)284-4050 or (619)471-2918	INTERNATIONAL CANINE SEMEN BANK OF TEXAS 1236 Brittmore Houston, TX 77043 (713)468-8253
CANINE LIFE LINES 5207 S. W. Barnes Road Portland, OR 97221 (503)227-3826	PRESERVATION, INC. P. O. Box 962 Ocean Shores, WA 98569 (206)533-6296 or (206)289-4103
CRYO-GENETIC LABORATORIES Rt 100 & Blackhorse Road Ludwigs Corner, Box 256-A Chester Spuings, PA 19425 (215)458-5888	SEAGER CANINE SEMEN BANK, INC. 329 Sioux Park Forest, IL 60466 (312)748-0954
CRYO TECH INTERNATIONAL, INC. Rt 1, Box 286 Abbeville, SC 29620 (803)446-8787	SPERMCO, INC. 490 W. Durham Ferry Road Tracy, VA 95376 (209)835-3259
HERDS'S MERCHANT SEMEN 7N330 Dunham Road Elgin, IL 60120 (312)741-1444	SPRING CREEK RANCH & REPRODUCTIVE CENTER 380S Collierville-Arlington Road Collierville, TN 38017 (901)853-0550
INTERNATIONAL CANINE GENETICS, INC. 527 Hilaire Road St Davids, PA 19087 (215)688-0836 or (215)640-4332	TRIPLE S. CRYOGENETICS University of Illinois Trail Box 217 Philo, IL 61864 (217)684-2900 or (217)253-3202
INTERNATIONAL CANINE SEMEN BANK, INC. NORTHWEST CENTER P. O. Box 6541 Sandy, OR 97055 (503)663-7031 or (503)663-257	UNITED BREEDERS SERVICE P. O. Box 211 Lubbock, TX 79048 (806)745-3419
INTERNATIONAL CANINE SEMEN BANK OF ILLINOIS Rt 78 North Virginia, IL 62691 (217)452-3006	UNIVERSITY OF GEORGIA College of Veterinary Medicine Athens, CA 30602 (404)542-9368 ro (404)542-3221

* Listed are the names of the facilities whose record keeping practices have been examined and found to be in compliance with AKC's regulations applying to the registration of litters produced artificially using frozen canine semen. AKC does not license, sponsor, or endorse these facilities.

넣고 마개를 막은후 약 500ml의 35°C 물이 들어 있는 비이커에 담군 다음 4°C의 냉장고에 보존한다. 이렇게 함으로써 희석정액만을 냉장시켰을 때 급속한 냉각으로 인해 발생하는 cold shock을 방지할 수 있다. 인공수정을 실시하기 전에 냉장보존된 정액을 35°C의 물에 1분 정도 정지시킨후 소량을 채취하여 현미경하에서 정자의 생존여부를 확인한다.

인공수정 방법에는 질내주입법, 경관내주입법, 자궁내주입법 등이 있으나 이중 자궁내 주입법의 수태율이 가장 높다.

수정용 catheter는 개나 여우에 사용할 수 있게 고안된 약 20cm 길이의 끝이 굽은 금속제 catheter가 있다. 소 인공수정용 plastic cheater를 20cm 정도로 잘라 만들 수 있으나 자궁경관을 통과시키기에는 부적합하므로 질내주입시에 사용된다. 2~5ml의 주사기로 정액을 흡인한 후 catheter adaptor에 끼운다. 정액의 양은 자궁내 주입시는 0.5~2ml, 질내(경관입구)주입시는 1~5ml 정도로 하고 총정자수가 자궁내주입시는 200×10^6 , 질내주입시는 300×10^6 이상되게 한다. catheter가 질내에서 오염되는 것을 막기 위해 멸균된 plastic cover sheath를 씌운다. cover sheath를 씌운 catheter를 질내로 삽입하고 복벽을 통해 자궁경을 잡아서 고정한다. 자궁경관입구에서 cover sheath를 벗기고 catheter만을 경관내로 서서히 삽입한다. 경관을 개의 두부쪽으로 견인하고 catheter끝을 서서히 돌리면서 적당히 힘을 가하면 삽입이 용이하다. catheter가 경관을 통과하면 복벽을 통해 끝이 촉진되므로 이때 정액을 서서히 주입한 다음 catheter를 천천히 제거하면 된다.

인공수정시 가능하다면 암개의 뒷다리를 위로 들고 실시한다. 정액주입후 clitoris 또는 질벽상부를 맞사아지하거나 손가락 또는 주사기 외통을 질내에 몇분동안 삽입하여 copulatory lock을 자극하면 수태율이 향상된다.

V. 수정적기 판정

개의 난자는 다른 동물과 달리 완전히 배란되

기에는 창시간(12~72시간)이 소요될 뿐만 아니라 배란후 약 2일이 지나야 완전히 성숙되며 성숙된 후에도 2~3일간 수정능력을 보유하고 있다. 또한 신선한 개의 정자는 암개의 난관내에서 6~7일간 수정능력을 유지한다. 그러나 동결 또는 냉장보존된 정자의 수정능력보유기간은 2일 이내이다. 개에서의 배란시기는 true estrus (발정전기에 나타나는 음문으로의 혈액성 배출물이 정지되고 수캐를 허용하는 시기) 개시후 1~2일에 일어난다. 이 시기는 바로 estrogen 및 LH surge후 2일째 또는 개에서 일어나는 독특한 현상인 preovulatory progesterone rise후 2~3일에 해당된다. 따라서 만일 hormone level의 측정이 가능하다면 LH surge 또는 preovulatory progesterone rise후 4~5일째나 수정적기가 된다.

질점액도말표본을 이용하면 개의 성주기 및 수정적기를 매우 정확히 측정할 수 있다. 발정휴지기에는 백혈구(대부분 호중구)는 존재하지만 적혈구는 없다. 발정전기에는 다수의 적혈구와 염색성이 양호한 대형평편각화상피가 점차로 증가하고 최후의 3일간은 매우 많다. 발정기 초기에는 백혈구와 비각화상피세포는 완전히 소실되고 대부분이 대형평편각화상피이며 적혈구수도 줄어든다. 발정기의 중기에는 각화상피에 뚜렷한 주름이 생기는데 이때가 수정적기이다. 발정기의 말기에서 발정후기의 초기에는 각화상피의 붕괴가 심하고 백혈구가 나타나기 시작하는데 이미 수정적기는 지나갔다는 징후이다.

성주기에 따라 변화되는 질점액의 전기저항의 차이를 측정원리로 하는 여우용 발정측정기를 이용하면 손쉽고 위생적으로 수정적기를 판정할 수 있다.

외수임상소견을 이용한 수정적기의 판정은 음문에서의 혈액성배출물이 사라지고 외음부의 부종상태가 유연하게된 시점에서 1~2일간이다.

분만시기는 LH surge후 64~66일, 수정후 60일 정도이며 수정후 초음파검사 또는 감각이 예민한 수의사의 촉진으로는 3~4주후 X-ray상으로는 7~8주 이상이 되어야 임신진단이 가능하다.