

소 임신진단키트를 이용한 번식효율 증진

성 환 후



농촌진흥청 축산기술연구소
유전공학과

한우의 번식에 있어서 번식효율을 증진하기 위해서는 정확한 수정적기의 선택과 수정후 가능하면 조기에 임신감정을 실시하여 공태기간을 최소로 단축시켜 번식우의 효율을 증진하고 송아지 생산비를 줄여야 할 것이다. 임신감정은 일반적으로 인공수정사나 수의사가 직장검사를 통해 태아를 확인하는 방법이 있으나, 이 방법은 수정후 50~60일 이후부터 가능하며 숙련자에 따라 진단율이 다르며 암소에게 스트레스를 주고 태아나 난소에 손상을 주거나 심하면 태아의 조기폐사 등의 부작용이 있으며 진단율도 2~3만원 정도 소요된다. 최근 임신진단을 현장에서 간단히 조기에 진단할 수 있는 새로운 방법이 개발되어 있어 소개하기로 한다.

1. 임신진단키트(Genedia-protest)의 개요

임신진단키트는 면역크로마토그래피법 (immunochromatographic assay)을 이용하여 체액(혈장, 혈청, 우유)속의 황체호르몬 (progesterone)

의 농도를 검출하여 젖소의 임신여부를 진단하는 키트이다. 즉, 비임신 및 임신여부를 진단하여 비임신우의 경우 인공수정을 곧 바로 실시하여 공태를 방지하고, 임신우의 경우 구획관리(우군이동)와 같은 조치를 신속히 취하게 하며, 난포낭종, 황체낭종, 영구황체 등의 난소기능 이상을 감별하는데 보조적으로 활용하여 분만지연 및 불임우 사육에 따른 농가의 경제적 손실을 최소화 할 수 있다. 이 임신진단키트의 특징은

- (1) 조기 진단
- (2) 검사법의 단순성
- (3) 검사의 신속성
- (4) 검사비용의 경제성 등이다.

(1) 조기 진단

체액내의 프로게스테론 농도 변화를 감지하므로 인공수정후 19~22일 사이에 임신여부를 진단할 수 있다. 이는 초음파검진(40일), 직장검사법(60일)보다 조기에 진단이 가능함을 의미한다.

(2) 검사법의 단순성

검사스트립에 검체(檢體) 1방울과 발색제 1방울을 적용하는 단순 조작으로 검사가 종결된다.

(3) 검사의 신속성

1회 검사에 소요되는 시간이 30분이므로 매우 신속하게 결과를 얻을 수 있다.

(4) 검사비용의 경제성

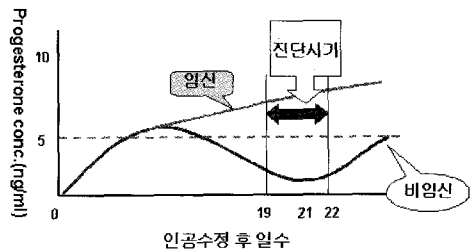
직장검사법은 숙련된 수의사만이 가능하므로 검진비용이 고가이고(3만원), 초음파 진단법은 고가

의 장비와 운영비가 요구되나 본 키트는 장비나 숙련된 기술이 필요하지 않으므로 1회 검사비용이 약 4,500원으로 매우 저렴하다.

2. 임신진단시기

임신진단시기는 인공수정후 19일, 20일 전후로서 비 임신시에는 발정관찰을 주의 깊게 관찰하여 공태기간을 최대한 줄일 수 있겠으며, 동일 개체에 반복사용이 가능하여 재 임신여부를 확인할 수 있기 때문에 조기배사멸(인공수정후 약 30일 전후)로 인한 장기공태를 예방할 수 있게 되었다.

[그림 1] Progesterone 농도를 이용한 임신판정 시기

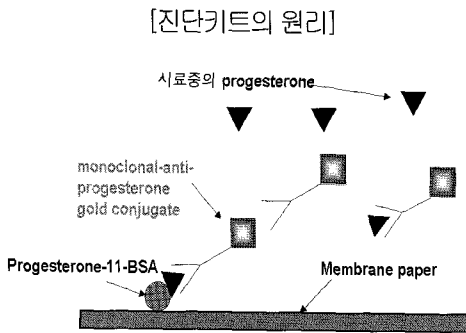


3. 조기임신진단의 중요성

목장에서 생산성을 높이려면 송아지 생산이 가능하도록 개체의 번식력을 최상으로 유지하는 것이 관건이다. 성공적인 번식관리는 인공수정후 최단기간 내에 효율적이고 정확한 임신여부 또는 발정을 감지해 내는 기술에 크게 의존한다. 인공수정후 비 임신우의 발정감지에 실패하게 되면 차기 인

공수정적기를 놓치게 되고 공태기간이 길어져 송아지 생산은 물론 젖소의 경우 유량이 감소된다. 공태기간이 지나치게 길어진 개체는 대개의 경우 도태 시켜야 하므로 이에 따른 추가손실이 발생한다. 따라서, 번식우의 정확하고 신속한 임신진단 또는 발정관찰이 농가소득과 직결된다고 할 수 있다.

4. 황체호르몬과 발정주기



황체호르몬(progesterone)의 혈중 및 유즙내의 농도는 발정기에는 1 ng/ml이하로 매우 낮으며 임신이 성립하면 5 ng/ml 이상으로 증가하게 된다. 소의 평균적인 발정주기는 21일이며 이는 정상적인 암소의 경우 발정이 20일 혹은 21일을 주기로 반복하여 나타남을 의미한다. 따라서, 인공수정 당일(예: 1월1일)을 0일차로 정하였을 때 20일차가 되는 날(예:1월21일)이 차기 발정일이 된다. 이때 임신인 경우는 프로게스테론의 농도가 발정기와 대조적으로 높게 나타나므로 임신여부를 판정할 수 있다. 특히, 젖소는 우유중 농도가 혈청 농도에 비해 2배정도 높으며 우유샘플 채취가 손쉬워 발

정후기(21일) 또는 임신초기 황체의 progesterone 분비량을 잘 반영해 주는 것으로 인정되고 있다. 프로게스테론의 농도변화를 검출하기 위해서는 효소면역측정법(EIA), 방사성동위원소측정법(RIA), 면역크로마토그래피법(ICA) 등의 면역검사법을 사용해야 한다.

5. 임신진단키트 사용시의 이점

(1) 직장검사법의 단점

직장검사의 경우 고도로 숙련된 전문가만이 수행할 수 있으며, 검사시 암소에 스트레스를 주게 된다. 검사 과정중에 난소의 손상이 일어날 수 있으며, 임신중일 경우 태아에도 나쁜 영향을 끼칠 수 있어 소(小)태아의 조기폐사를 유발하게 된다.

또한, 이 방법은 소태아가 손으로 만져 감지할 수 있을 만큼 성장한 경우에만 가능하므로 최소한 50~60일 이후에 실시하여야 한다. 따라서, 인공수정이 실패한 경우에는 2개월간의 공태기가 발생하게 된다. 즉, 분만간격이 2개월이상 늘어나게 되어 농가에 손실을 끼치게 된다.

[표 1] 임신진단키트의 활용 범위

응용분야	검사항목	효과	결론
목장관리 분야	발정유무의 확인 발정상태의 조사 조기비임신진단	분만간격 단축 산차수 증가 사료효율 및 우유 생산량의 증가	가축의 생산성 증가
수의임상 분야	난포낭종 조사 황체낭종 조사 영구황체 조사 둔성발정 조사 비정상 발정주기 조사 분만 후 발정재귀 조사	번식장애 요인이 조기발견 확진 전 보조진단 호르몬제 투여에 대한 검증	번식장애를 최소화 하여 번식효율을 증대시킴으로 가축 의 생산성을 높임

(2) 임신진단키트 활용

임신진단키트를 활용할 경우 조기임신진단이 가능하고 번식우의 번식기능을 평가할 수 있으며, 난소기능의 검사 및 진찰과 같은 임상수의 분야에서 도 과학적인 진단자료를 얻을 수 있다.

6. 임신진단키트의 활용방법

(1) 일반적인 활용방법

수정후 19~20일에 측정하여 조기임신여부 확인

(2) 가장 바람직한 활용방법

난소기능의 상태, 발정의 검증, 임신진단을 통합적으로 실시하는 것이 좋다. 즉, 수정당일, 수정 후 7, 14, 19일에 측정하여 가축의 번식기능을 확인함으로써 임신진단의 정확도를 높일 수 있다.

7. 발정주기 기록의 의미

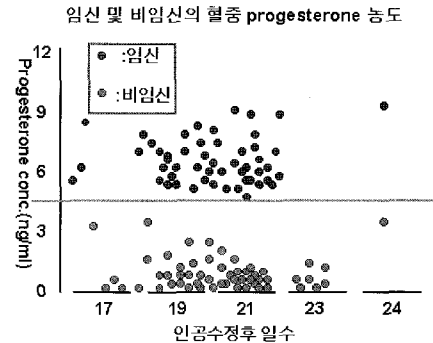
(1) 정상 발정주기인 경우

인공수정 후 19일에 검사하면 임신과 비 임신의 차이를 구별할 수 있음.

(2) 비정상 발정주기인 경우

발정주기가 평균치인 20일 보다 길어 25일인 경우에는 수정후 19일에 검사하면 임신과 비 임신의 차이가 뚜렷하지 않아 결과에 많은 오차가 나타난다. 따라서, 발정주기 관찰이 검사의 정확도를 위해 필수적으로 요구된다.

[그림 2] 인공수정후 17일부터 24일까지 프로게스테론 농도차에 의한 임신 및 비 임신의 구분



★ 혈중프로게스테론 농도가 4 ng/ml에서 임신과 비임신을 구분할 수 있다.

8. 소 임신진단키트의 사용방법

소 임신진단키트는 녹십자(주)와 공동으로 1999년 3월부터 1년간의 연구개발을 추진하였으며 1999년 8월에 특허출원(출원번호10-1999-0034180)을 하여 2001년 8월까지 실증실험을 추진중에 있다. 상품등록을 신청중에 있으며 허가를 득함과 동시에 시판될 것으로 사료된다.

이 임신진단키트는 수정후 차기 발정에정일인 수정후 19일부터(19, 20, 21일) 진단이 가능하며 농가에서 직접 사용이 가능하며, 사용방법은 다음과 같다.

▶ 소 임신진단 키트(Genedia-protest) 사용 방법

본 키트의 모든 시약은 검사 30분전에 냉장고에서 꺼내어 실온으로 조정한 후 사용한다.

(1) 먼저 동결건조된 접합체(콘쥬게이트) 한병

에 희석용액으로 희석하여 사용하는데, 이때 희석량은 내장된 스포이드를 이용하여 표시된 눈금까지(250 μ l)를 집합체에 넣어 용해시킨다(5~6번 흔들면 쉽게 용해되며 한병에 10두분의 용액이므로 사용후 반드시 냉장보존할 것)

(2) 검사에 필요한 수량만큼 1회용 시험관을 준비한다.

※ 1회 진단시 사용해야 하는 시험관의 개수

※ 시료는 혈액의 경우, 혈청이나 혈장을 사용하며 우유는 탈지유를 사용한다.

(3) 동봉한 드롭퍼(Dropper)를 사용하여 직각으로 반드시 세운다음, 시험관에 시료를 각각 한 방울씩 떨어뜨린다(시료한방울은 약 40 μ l임).

※ 주의사항 : 드롭퍼(Dropper)는 반드시 각각 다른 것을 사용해야 한다.

(4) 2번과 같이 준비한 시험관에 접합체액(분홍색)을 1방울(약 25 μ l정도임)씩 떨어뜨린후 10회 이상 흔들어 주고 검사용 스트립을 한 개씩 넣어 준다.

(5) 20~30분이 경과한 후 표준액을 반응시킨 검사스트립에 나타난 밴드의 세기를 기준으로 하여 각 시료의 검사 결과를 판정한다.

▶ 시료채취 방법

수정후 발정예정일 하루전날(19~21일 사이)에 채취한다.

1. 혈청을 시료로 사용하는 경우 : 채취한 혈액을 냉장(2~8℃)상태로 정치하거나 원심분리하여 혈구 및 고형성분을 제거한 후 맑은 상청만을 사용한다.

2. 우유를 시료로 사용하는 경우 : 시료는 저녁

착유시 채취한다. 채취시 처음 3~4번은 손으로 짜 버린 후 5ml정도 채취한다. 채취한 시료는 냉장고에 보관한다. 하루정도 냉장 정치시킨후 지방층을 제거하고 탈지유를 검사에 사용한다.

▶ 결과판독

1. 결과판정

• 음성(불임혹은 난포기) : 시료를 검사한 스트립의 밴드 2개가 윗쪽보다 진할 경우

• 양성(임신 혹은 황체기) : 스트립의 아래쪽 밴드가 거의 없거나 위쪽의 밴드보다 더 흐리게 나타나는 경우

• 의 양성 : 시료를 반응시킨 스트립의 밴드가 윗쪽 밴드와 비슷한 경우

2. 결과해석(조기 비 임신 및 임신진단)

• 음성판정의 경우(거의 100% 비 임신으로 판단된다.) : 이때는 비 임신상태이며 발정전후의 상태로 추정되니 번식기록을 확인바람.

• 양성판정의 경우(90%정도 임신으로 판정한다.) : 이때는 임신이거나 발정주기 중인 경우에는 황체기(발정주기 제7~15일)로 추정되며, 간혹 황체낭종 등 번식장애우의 경우에도 양성반응으로 나타남.

▶ 주의사항

• 임신가능성이 90%인 것은 발정주기의 불규칙성, 태아조기 폐사, 영구황체, 난소 및 자궁상태의 이상 등에 기인하여 비임신에도 불구하고 황체호르몬이 유지되어 임신과 동일하게 양성으로 나타나는 경우가 있기 때문이다.

• 의양성인 경우 발정주기 및 시료채취 시기등

이 적합치 않으므로 15일 후쯤 재검사하는 것이 좋다.

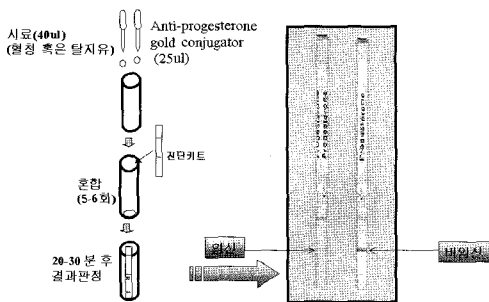
• 차기 발정일의 예측진단

– 음성일 경우 1~2일 후에 재발정이 올것으로 예측한다.

• 일부 젖소는 발정주기가 20일보다 긴 경우가 있어 시료 채유시 발정주기에 맞추어 채취하여야 한다. 따라서 정확한 발정주기의 기록이 필요하다. 진단하는 장소의 온도는 20~28℃가 적당하다.

• 사용이 끝난 시약은 바로 냉장고에 넣는다. 단, 냉장고에서 얼러서는 절대 안된다. 냉장칸의 온도가 너무 낮아 얼음이 얼 수도 있으므로 주의하여 보관한다.

[진단키트의 사용방법 및 결과 판정]



상기의 그림과 같이 내장된 발색제 (anti-progesterone gold conjugater) 한방울(25 μ l)과 혈청 및 우유(탈지유) 한방울(40 μ l)을 준비된 시험관에 혼합하여 진단키트에 반응시키면 약 20~30분후에는 결과를 판정할 수 있다.

즉, 상기의 우측에서 나타난 바와 같이 아래쪽에 있는 밴드의 색깔이 윗쪽보다 진하면 비임신 혹은

난포기로 판정되며 반대로 윗쪽보다 아래쪽의 밴드가 약하거나 나타나지 않으면 임신 혹은 황체가 해당된다고 진단할 수 있다.

[표 2] 임신진단 키트에 의한 한우 조기임신진단 결과

번식상태 (인공수정 후)	임신(양성)	비임신(음성)	의양성
	사용두수(%)	사용두수(%)	사용두수(%)
19일	17(88.2)	-	
20일	184(94.2)	82(96.2)	11(4.8)
21일	73(97.2)	32(97.1)	
합계	274(93.2)	114(96.7)	11(4.8)

9. 임신진단키트개발에 따른 기대효과

• 검사방법이 극히 간단하여 현장에서 직접 임신진단이 가능함.

• 인공수정후 19일, 20일째에 임신여부를 진단하여 공태기간을 크게 줄여 번식효율을 증진하고 송아지생산비를 절감시키는 효과가 있음.

• 난소의 상태와 번식장애우의 조기진단 효과가 있음.

• 동일개체에 2번이상 사용하여 임신여부를 정확하게 진단하고 조기 배 사멸로 인한 장기공태를 예방할 수 있음.

• 유즙을 대상으로 임신진단도 가능함.

※ 필자 연락처 : 경기도 수원시 권선구 오목천동 564
축산기술연구소
전화 : 031-290-1631