

소형 애완견에서 발정주기별 질세포 출현율의 비교

양준열, 손창호[†]

전남대학교 수의과대학

Comparison of Appearance Rate of Vaginal Cytology According to Estrous Cycle in Small Pet Bitches

Jun-Yeol Yang and Chang-Ho Son[†]

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the appearance rate of vaginal cytology during estrous cycle in small pet bitches. A characteristic features of vaginal cytology during the estrous cycle were the high proportion of superficial cell in proestrus, anuclear cell in estrus, small intermediate cell in diestrus, and small intermediate cell in anestrus, respectively. There were no statistically significant differences of appearance rate of vaginal cytology among small pet bitches in the each phase of estrous cycle. These results indicated that the vaginal cytology was useful method for estimating estrous cycle and optimal breeding time in small pet bitches.

(Key word: vaginal cytology, estrous cycle, bitch)

서 론

개에서 질세포 검사는 간편하고 신속하며, 비침습성의 저렴한 검사법으로서 실제 임상에서 널리 활용되고 있다(Goodman, 2002; Groppetti 등, 2012; Rota 등, 2016). 특히 개는 발정기의 길이가 다른 동물에 비해 길기 때문에 다른 동물처럼 임상적 발정증상의 육안적 관찰에 의한 배란시기 추정은 그 정확성이 떨어진다(Moxon 등, 2010).

개에서 질세포 검사법의 응용성으로는 발정주기의 확인(Bell과 Christie, 1971; 김 등, 2008; Moxon 등, 2010; Groppetti 등, 2012; Rota 등, 2016), 교배적기 추정(Post, 1985; Wright, 1990; 김 등, 2006), 배란시기 추정(Linde와 Karlsson, 1984, Wright, 1990; Goodman, 2002; 김 등, 2006), 분만일 추정(박 등, 2013), 발정유기 효과의 확인(박 등, 2010) 및 질병진단(England, 1992; Feldman과 Nelson, 1996; Groppetti 등, 2010) 등에 활용되고 있다.

한편 발정주기 중 난소에서 분비되는 estrogens은 질상피 세포를 증식, 분화 및 박리시킨다 즉 발정전기의 전반부에는 주로 적혈구, 백혈구, large intermediate cell이 출현하고 후반부에는 superficial cell과 anuclear cell이 출현한다. 발정기의 전반부에는 주로 superficial cell과 anuclear cell이 출현하다가

후반부에는 이들의 세포는 감소하면서 large intermediate cell이 증가된다. 그리고 발정후지기에는 백혈구가 재출현 하면서 small intermediate cell 증가되고 무발정기에는 parabasal cell과 small intermediate cell의 비율이 증가된다(Feldman과 Nelson, 1996; 손 등, 1996; 김 등, 2000; Johnston 등, 2001; 김 등, 2006).

이와 같이 질세포 검사를 이용하여 발정주기의 확인 교배 적기와 배란시기의 추정 발정유기의 확인 및 질병진단 등에 관한 연구가 많이 보고되고 있다 그러나 여러 견종을 대상으로 발정주기별 질세포의 출현율을 비교한 연구는 보고된 바 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 우리나라에서 가장 많은 사육되고 있는 소형 애완견 4종에서 발정주기별 질세포의 출현율을 비교하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 대상 동물

분만경험이 있는 무발정기의 Maltese 견 12마리(연령 2-7년, 산차 1.6산, 체중 2.5-4.2 kg), Yorkshire terrier 견 12두(연령 2-8년, 산차 1.8산, 체중 1.4-2.4 kg), Shih-tzu 견 17두(연령

[†] Corresponding author: Chang-Ho Son
Tel: +82-62-530-2865
E-mail: chson@jnu.ac.kr

2-7년, 산차 1.9산, 체중 3.9-6.5 Kg), Miniature Schnauzer 견 12두(연령 2-7년, 산차 1.9산, 체중 4.8-7.4 kg)를 대상으로 하였다. 모든 실험견은 실험개시 1개월 전에 구충 및 예방접종 (canine distemper, canine hepatitis, canine parvovirus, canine leptospira combined vaccine)을 실시하였다. 사육은 격리된 공간에 1두씩 격리 사육하였고 사료는 제한급여 하였으며 물은 자유 음수토록 하였다

2. 발정 출혈 확인

발정 출혈 및 외음부 종대의 확인은 발정 출혈 개시 예정 2개월 전부터 매일 육안적으로 관찰하였다 교배 허용 유무는 발정 출혈 개시일부터 발정이 종료될 때까지 매일 아침과 저녁 2회 관찰하였으며, 교배는 최초 교배 허용일 부터 2일 간격으로 동일 종의 수캐와 2-3회 자연 교배 시켰다

3. 발정주기의 구분

발정 증상의 육안적 관찰에 의한 발정주기의 구분은 Concannon과 Lein(1989) 및 김 등(2008)의 기술에 준하여 발

정전기, 발정기, 발정휴지기, 무발정기로 구분하였다

4. 질세포 검사

질세포 검사는 발정전기 개시일부터 발정휴지기 20일까지는 매일, 발정휴지기 21일째부터 다음 발정전기 개시일까지는 주 1회 실시하였다. 질세포는 Guyant(1988) 및 김 등(2000, 2008)의 방법에 준하여 면봉법으로 채취한 후 slide glass 2장에 직접 도말, 자연 건조시킨 후 Wright's 염색을 실시하였다. 질세포의 구분은 Schutte(1967a; 1967b) 및 김 등(2000, 2008)의 기술에 준하여 5가지 세포로 분류하였고 적혈구와 백혈구의 출현정도는 Bell과 Christie(1971)의 기술에 준하여 6등급으로 분류하였다

Cornification Index (CI)의 산출은 김 등(2000)의 기술에 준하여 다음과 같이 산출 하였다

$$CI = \frac{\text{Number of cornified cells}}{\text{Total number of epithelial cells}} \times 100$$

Table 1. The percentages (Mean±sem) of vaginal and blood cells in vaginal smears during proestrus phase in small pet bitches

| Cell types | Maltese ** | Yorkshire terrier | Shih-tzu | Miniature Schnauzer |
|-------------------------|------------|-------------------|------------|---------------------|
| Parabasal cell | 2.05±2.14 | 2.10±2.25 | 2.43±2.45 | 2.16±2.23 |
| Small intermediate cell | 8.67±1.81 | 9.08±1.83 | 8.88±1.65 | 9.45±1.23 |
| Large intermediate cell | 24.15±1.36 | 23.12±1.28 | 25.12±1.24 | 24.55±1.75 |
| Superficial cell* | 37.54±1.37 | 36.50±1.42 | 38.68±1.84 | 37.12±1.65 |
| Anuclear cell | 31.52±1.39 | 32.28±1.33 | 33.01±1.12 | 32.34±1.76 |
| RBC | 2.23±1.06 | 2.42±1.17 | 2.32±1.11 | 2.33±1.51 |
| WBC | 0.33±2.61 | 0.36±2.12 | 0.33±2.19 | 0.35±1.91 |
| Cornification index | 68.91±1.42 | 70.20±1.23 | 69.18±1.94 | 68.90±1.22 |

*Differences were significant between values indicated with asterisk and each other values in the same column ($p < 0.001$).

**There were no statistically significant differences of each cell types among bitches in the same row.

Table 2. The percentages (Mean±sem) of vaginal and blood cells in vaginal smears during estrus phase in small pet bitches

| Cell types | Maltese ** | Yorkshire terrier | Shih-tzu | Miniature Schnauzer |
|-------------------------|------------|-------------------|------------|---------------------|
| Parabasal cell | 0.03±0.11 | 0.02±0.13 | 0.02±0.10 | 0.03±0.09 |
| Small intermediate cell | 0.98±0.99 | 0.89±0.91 | 0.98±0.97 | 0.97±0.96 |
| Large intermediate cell | 9.62±0.82 | 8.95±0.87 | 9.12±0.88 | 8.98±0.23 |
| Superficial cell | 40.13±1.11 | 41.53±1.30 | 42.09±1.01 | 40.99±1.12 |
| Anuclear cell* | 51.99±1.12 | 52.48±1.13 | 51.66±1.21 | 50.99±1.22 |
| RBC | 1.70±1.99 | 1.61±1.25 | 1.91±1.45 | 1.87±1.21 |
| WBC | 0.02±0.11 | 0.03±0.10 | 0.02±0.12 | 0.02±0.14 |
| Cornification index | 92.33±1.08 | 91.55±1.01 | 93.05±0.99 | 92.45±1.10 |

*Differences were significant between values indicated with asterisk and each other values in the same column ($p < 0.001$).

**There were no statistically significant differences of each cell types among bitches in the same row.

Table 3 The percentages (Mean±sem) of vaginal and blood cells in vaginal smears during diestrus phase in small pet bitches

| Cell types | Maltese ** | Yorkshire terrier | Shih-tzu | Miniature Schnauzer |
|--------------------------|------------|-------------------|------------|---------------------|
| Parabasal cell | 23.74±0.99 | 24.27±0.97 | 22.99±0.91 | 23.17±0.89 |
| Small intermediate cell* | 49.88±0.88 | 50.01±0.66 | 49.97±0.16 | 48.99±0.49 |
| Large intermediate cell | 24.15±0.25 | 23.93±0.78 | 24.15±0.88 | 23.67±0.69 |
| Superficial cell | 7.98±1.12 | 7.97±1.21 | 7.91±1.41 | 7.66±1.11 |
| Anuclear cell | 9.14±1.12 | 8.88±0.99 | 8.43±1.25 | 8.21±1.56 |
| RBC | 0.16±1.07 | 0.15±1.99 | 0.11±1.11 | 0.16±1.01 |
| WBC | 1.99±1.18 | 2.01±0.21 | 2.00±.33 | 2.00±0.16 |
| Cornification index | 13.99±1.11 | 13.33±1.25 | 14.01±1.12 | 12.99±1.81 |

*Differences were significant between values indicated with asterisk and each other values in the same column ($p<0.001$).

**There were no statistically significant differences of each cell types among bitches in the same row.

Table 4. The percentages (Mean±sem) of vaginal and blood cells in vaginal smears during anestrus phase in small pet bitches

| Cell types | Maltese ** | Yorkshire terrier | Shih-tzu | Miniature Schnauzer |
|--------------------------|------------|-------------------|------------|---------------------|
| Parabasal cell | 26.82±0.98 | 27.13±0.91 | 27.11±0.87 | 26.87±0.92 |
| Small intermediate cell* | 55.21±1.11 | 56.15±1.12 | 54.11±1.21 | 55.23±1.16 |
| Large intermediate cell | 17.93±1.12 | 15.99±1.21 | 17.32±1.17 | 16.56±1.43 |
| Superficial cell | 2.05±1.99 | 2.12±1.44 | 2.43±1.29 | 2.01±2.27 |
| Anuclear cell | 0.21±0.76 | 0.22±0.87 | 0.20±0.82 | 0.22±0.67 |
| RBC | 0.01±0.10 | 0.02±0.09 | 0.02±0.13 | 0.01±0.94 |
| WBC | 0.39±.96 | 0.37±0.19 | 0.35±0.27 | 0.37±0.18 |
| Cornification index | 1.26±1.11 | 1.19±1.01 | 1.21±1.12 | 1.67±1.17 |

*Differences were significant between values indicated with asterisk and each other values in the same column ($p<0.001$).

**There were no statistically significant differences of each cell types among bitches in the same row.

Table 5. The percentages (Mean±sem) of vaginal and blood cells in vaginal smears during each phase of the estrous cycle in small pet bitches

| Cell types | Proestrus | Estrus | Diestrus | Anestrus |
|-------------------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| Parabasal cell | 2.05±1.99 | 0.02±0.11 | 24.21±0.94 | 26.44±0.96 |
| Small intermediate cell | 8.71±1.79 | 0.89±1.15 | 48.71±0.86* | 56.11±1.11* |
| Large intermediate cell | 24.23±1.54 | 8.76±0.89 | 24.01±0.78 | 17.52±1.43 |
| Superficial cell | 37.66±1.45* | 42.11±1.21 | 7.34±1.34 | 2.05±1.99 |
| Anuclear cell | 32.64±1.32 | 52.13±1.05* | 8.45±1.15 | 0.21±1.04 |
| RBC | 2.33±1.54 | 1.61±2.11 | 0.15±1.08 | 0.21±0.76 |
| WBC | 0.34±1.67 | 0.03±0.11 | 2.01±1.09 | 0.37±1.21 |
| Cornification index | 69.88±1.14 | 91.65±1.12** | 13.78±1.21 | 1.15±1.24 |

*Differences are significant between values indicated with asterisk and each other values in the same column ($p<0.001$).

**Differences are significant between values indicated with asterisk and each other values in the same row ($p<0.001$).

5. 통계 처리

발정주기별 질세포의 비율은 Mean±sem, 그리고 견종별 및 발정주기별 질세포의 비교는 SAS 9.1의 GLM(General Linear Model)을 이용하여 유의성을 검토하였다

결 과

1. 각 발정주기에서 견종별 질세포의 비교

발정전기에는 superficial cell이 가장 높게 나왔으며 각 세포의 출현율은 견종별로 차이는 없었다(Table 1), 발정기에는 anuclear cell이 가장 높게 나왔으며 각 세포의 출현율은 견종별로 차이가 없었다(Table 2). 발정휴지기에는 small intermediate cell이 가장 높게 나왔으며 각 세포의 출현율은 견종별로 차이가 없었다(Table 3), 무발정기에도 small intermediate cell이 가장 높게 나왔으며 각 세포의 출현율은 견종별로 차이가 없었다(Table 4).

2. 모든 견종에서 발정주기별 질세포의 출현율

질세포별 출현율은 Parabasal cell이 무발정기, small intermediate cell은 발정휴지기와 무발정기, large intermediate cell은 발정 전기와 발정휴지기, superficial cell은 발정 전기와 발정기, anuclear cell도 발정 전기와 발정기에는 가장 많이 출현하였다 (Table 5).

모든 견종에서 발정주기별 질세포의 출현율은 발정 전기에는 superficial cell, 발정기에는 anuclear cell, 발정휴지기에는 small intermediate cell, 무발정기에도 small intermediate cell이 가장 많이 출현하였다(Table 5).

한편 모든 견종에서 발정주기별 CI는 발정기 때 91.65%로 가장 높게 나타났다(Table 5).

고 찰

개의 질세포는 주기적으로 변화하기 때문에 이들을 연속적으로 검사하면 질병의 진단 등에 활용할 수 있는(Johnston 등, 2001; Groppetti 등, 2012; Rota 등, 2016), 이와 같이 임상적으로 활용하기 위해서는 발정주기별 질세포의 변화가 정확히 확인되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 우리 나라에 가장 많이 사육되고 있는 Maltese 견 12마리, Yorkshire terrier 견 12두, Shih-tzu 견 17두, Miniature Schnauzer 견 12두 등 전체 53두에서 발정주기 동안 질세포를 검사한 후, 각 발정주기별 질세포의 출현율을 견종별로 비교하였다. 발정 전기에는 superficial cell이 가장 높게 나왔

고 각 세포의 출현율은 견종별로 차이는 없었으며, 발정기에는 anuclear cell이 가장 높게 나왔고 각 세포의 출현율은 견종별로 차이는 없었다. 발정휴지기에는 small intermediate cell이 가장 높게 나왔으며 각 세포의 출현율은 견종별로 차이는 없었고 무발정기에도 small intermediate cell이 가장 높게 나오면서 각 세포의 출현율은 견종별로 차이가 없었다 즉 발정주기별 질세포의 출현율은 견종별로 차이가 없었다 이는 발정 전기에는 주로 superficial cell, 발정기에는 superficial cell과 anuclear cell, 발정휴지기에는 large intermediate cell과 small intermediate cell, 그리고 무발정기에는 small intermediate cell과 parabasal cell이 주로 출현한다는 보고(Schutte, 1967b; Guyant, 1988; Moxon, 2010)와 일치하였고 또한 견종에 따라서도 질세포의 출현율에 차이가 없다는 것이 확인되었다

한편 Johnston 등(2001)은 발정 전기와 발정기 때 CI가 증가하기 때문에, 질세포 검사로 CI를 확인하면 교배 적기 LH surge 일 또는 배란일을 예측할 수 있다고 하였고 그리고 김 등(2000; 2006)이 CI가 90% 이상 일 때가 교배 적기라고 보고 하였다. 본 연구에서도 발정기 때 CI가 90% 이상으로 나타났는데, 이러한 결과는 앞으로 교배 적기의 판정을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다

이상과 같이 소형 애완견에서 발정주기 중 질세포의 출현율을 비교하였던 바, 견종별 차이가 없었고 발정기 때 CI가 90% 이상으로 높게 나타났따 따라서 질세포 검사는 발정주기를 확인하고 교배 적기를 추정하는데 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

소형 애완견종에서 발정주기 중 질세포의 출현율을 견종별로 비교하기 위하여 질세포 검사를 실시하였다 발정주기별로 질세포의 출현율은 발정 전기에는 superficial cell, 발정기에는 anuclear cell, 발정휴지기에는 small intermediate cell, 무발정기에도 small intermediate cell이 가장 많이 출현하였다 한편 발정주기별 질세포의 출현율은 견종별로 차이가 없었다 따라서 발정주기 중 질세포 검사는 발정주기를 확인하고 교배 적기를 추정하는데 응용될 수 있을 것으로 사료된다

REFERENCES

- Bell ET and Christie DW. 1971. Erythrocytes and leukocytes in the vaginal smears of the beagle bitch. Vet. Rec. 88:546-549.

- Concannon PW and Lein DH. 1989. *Current Veterinary Therapy*. 10th ed, Saunders, Philadelphia, pp.1269-1282.
- England G. 1992. Vaginal cytology and cervicovaginal mucus arborisation in the breeding management of bitches. *J. Small Anim. Pract.* 33:577-582.
- Feldman EC and Nelson RW. 1996. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 2nd ed. Saunders, Philadelphia, pp.526-546.
- Goodman M. 2002. Demystifying ovulation timing. *Clin. Tech. Small Anim. Practice* 17:97-103.
- Groppetti D, Pecile A, Arrighi S, Di Giancamillo A and Cremonesi F. 2010. Endometrial cytology and computerized morphometric analysis of epithelial nuclei: a useful tool for reproductive diagnosis in the bitch. *Theriogenology* 73:927-941.
- Groppetti D, Pecile A, Barbero C and Martino. 2012. Vaginal bacterial flora and cytology in proestrous bitches: Role on fertility. *Theriogenology* 77:1549-1556.
- Guyant L. 1988. Canine vaginal cytology. *Veterinary Technician* 9:513-520.
- Johnston SD, Root Kustritz MV and Olson PNS. 2001. *Canine and Feline Theriogenology*. 1st ed, Saunders, Philadelphia, pp.16-40.
- Linde C and Karlsson I. 1984. The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. *J. Small Anim. Pract.* 25:77-82.
- Moxon R, Copley D and England GCW. 2010. Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study. *Theriogenology* 74:479-485.
- Post K. 1985. Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *Can. Vet. J.* 26:101-104.
- Rota A, Vannozzi I, Marianelli S, Gavazza A and Lubas G. 2016. Laboratory and clinical evaluation of a feia method for canine serum progesterone assay. *Reprod. Dom. Anim.* 51:69-74.
- Schutte AP. 1967a. Canine vaginal cytology. I. Technique and cytology morphology. *J. Small Anim. Pract.* 8:301-306.
- Schutte AP. 1967b. Canine vaginal cytology. II. Cyclic changes. *J. Small Anim. Pract.* 8:307-311.
- Wright PJ. 1990. Application of vaginal cytology and plasma progesterone determinations to the management of reproduction in the bitch. *J. Small Anim. Pract.* 31:335-340.
- 김방실, 오기석, 김재풍, 배춘식, 김성호, 김종택, 박인철, 박상국, 손창호. 2006. Shih-tzu견에서 발정주기 동안 질세포검사 및 번식호르몬측정에 의한 교배적기 및 배란시기의 추정. *한국수정란이식학회지* 21:207-216.
- 김정배, 김방실, 박상국, 김재풍, 문진산, 오기석, 손창호. 2008. Miniature Schnauzer 견에서 발정주기 동안 질세포검사의 유용성. *한국수정란이식학회지* 23:13-18.
- 김정훈, 정경아, 강현구, 오기석, 박인철, 박상국 한호재, 손창호. 2000. 진돗개에서 발정 주기동안 질세포상과 번식호르몬의 관계. *한국임상수의학회지* 17:225-233.
- 박철호, 양준열, 박준태, 이상호, 박인철, 김종택, 서국현, 오기석, 손창호. 2013. 소형견에서 발정주기 동안 질 세포 검사에 의한 분만일의 예측. *한국수정란이식학회지* 28:25-30.
- 박철호, 이숙경, 김방실, 배재한, 류재선, 김상일, 이주환, 박상국, 박인철, 김종택, 서국현, 오기석, 손창호. 2010. 시츄견에서 질세포검사를 이용한 발정 주기 효과 확인. *한국수정란이식학회지* 25:67-75.
- 손창호, 백인석, 신창록, 최한선, 강병규. 1996. 진도개에서 발정주기, 교배적기 및 배란시기 판정을 위한 질세포검사의 이용성. *한국임상수의학회지* 13:114-122.

Received September 05, 2016, Revised September 25, 2016,
Accepted September 27, 2016