



LH-peaken hos tik

Sker den när vi tror?

Magdalena Petré

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2026



LH-peaken hos tik – Sker den när vi tror?

The LH-peak in the bitch – Is the general consensus on when it occurs correct?

Magdalena Petré

Handledare:	Eva Axné, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper (KV-UDS)
Bitr. handledare:	August Rooth, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper (KV-UDS)
Bitr. handledare:	Ulrika Hermansson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper (KV-UDS)
Examinator:	Josef Dahlberg, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper (KV-UDS)
Omfattning:	30 hp
Nivå och fördjupning:	Avancerad nivå, A2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod:	EX1003
Program/utbildning:	Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.:	Institutionen för kliniska vetenskaper
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2026
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord:	luteiniserande hormon, LH, LH-peak, Witness LH, progesteron, Immulite 2000

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Att bestämma optimal tidpunkt för parning eller artificiell insemination av tik är många gånger en utmaning. LH-peaken används som indirekt indikation på en stundande ägglossning men i stället för att mäta LH direkt används analys av progesteron för att påvisa LH-peaken. På Universitetsdjursjukhuset anses progesteronkoncentrationen 6–9 nmol/L motsvara LH-peaken, ett intervall som tagits fram med en äldre analysmetod än den som används idag. Syftet med denna studie var att ta reda på om LH-peaken verkligen sker när vi tror.

För detta har blodserum samlats från 38 blodprovstagningar på tikar som vid besök på UDS reproduktionsavdelning fått progesteron analyserat. Aidentifierade prover med progesteron inom intervallet 2–12 nmol/L har därefter analyserats med Witness LH. Witness LH är ett snabbtest som påvisar koncentrationer av LH över 1 ng/ml. Resultaten har analyserats både okulärt och genom digital färganalys där ljusstyrkan i den mörkaste nyansen i testets kontrollinje i ett fotografi jämförts med motsvarande i testlinjen. Skillnaden i ljusstyrka mellan linjerna har angetts i differensen L utifrån nyansernas HSL-koder.

För de 38 serumproverna erhöles inget positivt resultat med Witness LH, LH-peaken kunde alltså inte identifieras i studien. En stor variation i differens sågs bland resultaten, för en del prover var skillnaden mellan test- och kontrollinje mycket mindre än för andra prover. I resultatet gjordes tolkningen att dessa prover tagits från individer som befann sig närmre LH-peaken.

Resultaten tyder på att LH-peaken inte kan antas förekomma inom intervallet 6–9 nmol/L hos samtliga individer. Det finns utifrån resultatet även anledning att misstänka att LH-peaken snarare sker tidigare än vi tror. Inga säkra slutsatser kan dock dras utifrån studien, för detta krävs vidare forskning med ett större underlag.

Nyckelord: luteiniserande hormon, LH, LH-peak, Witness LH, progesteron, Immulite 2000

Abstract

Determination of the optimal time for breeding or artificial insemination of the bitch often implies some challenges. The LH-peak is commonly used as an indirect indication of an upcoming ovulation but instead of analysing the concentration of LH directly analyse of progesterone is more common. At the Swedish University animal hospital a progesterone concentration between 6 and 9 nmol/L is considered to represent the peak in LH. This is based on studies where older methods of analysis have been used. The aim of this study therefore was to determine whether the general consensus on when the peak occurs is correct.

Blood serum from 38 visits to the reproduction clinic, all of which included analyzation of progesterone, were collected. All samples analyzed with the Witness LH test contained a concentration of progesterone between 2 and 12 nmol/L and were unidentified before the test. The Witness LH test is a quick test used to identify LH concentrations above 1 ng/ml. The test results were analyzed both ocularly and through digital colour analysis of the photographed result. Through the colour analysis the darkest shade from the test line and control line were compared using the number of L from the shades HSL codes.

For the 38 included serum samples not one positive result was obtained with Witness LH, meaning the peak of LH could not be identified in the study. A large variation in difference was seen among the results, for some samples the difference between the test and control line was much smaller than for others. The interpretation that these samples were taken from individuals closer to the LH peak was made.

The results indicate that the LH peak can not, in all individuals, be assumed to occur within the range of 6–9 nmol/L. There is also reason to suspect that the peak in LH occur earlier than we think. However no certain conclusions can be drawn from the study. Further research with a larger sample size is required.

Keywords: luteinizing hormone, LH, LH peak, Witness LH, progesterone, Immulite 2000

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	9
Figurförteckning	10
Förkortningar	11
1. Inledning	13
2. Litteraturoversikt	15
2.1 Tikens reproduktionsfysiologi.....	15
2.1.1 Äggstockarnas uppbyggnad	15
2.1.2 Reproduktionscykelns faser.....	15
2.1.3 Reproduktionshormonerna och deras reglering	16
2.2 Metoder för bedömning av cykliskt stadie.....	18
2.2.1 Fysiska tecken	18
2.2.2 Beteendeförändringar	19
2.2.3 Vaginalcytologi.....	19
2.2.4 Analys av progesteron	20
2.2.5 Ultraljud.....	20
2.3 LH-peaken och ovulation	20
2.3.1 LH-peakens duration samt koncentrationen LH	20
2.3.2 Koncentrationen progesteron vid LH-peaken	21
2.4 Fertilisering och dräktighet.....	22
2.4.1 Oocyternas mognad och överlevnad	22
2.4.2 Spermernas mognad och överlevnad	22
2.4.3 Förväntad dräktighetslängd	22
2.5 Effekten av kastration på LH-koncentrationen	23
2.6 Metoder för analys av progesteron	23
2.6.1 Radioimmunoassay (RIA).....	23
2.6.2 Chemiluminescent immunoassay (CLIA)	23
2.6.3 Jämförelse av resultat med RIA och CLIA.....	24
2.7 Metoder för analys av LH.....	24
2.7.1 Witness LH test.....	24
2.7.2 Radioimmunoassay (RIA).....	24
2.7.3 Chemiluminescent immunoassay (CLIA)	25
2.7.4 Jämförelse av resultat med Witness LH för validering	25
3. Material och metoder.....	26
3.1 Urval och material	26
Provtagning och hantering av provmaterial	26

3.2	Analys av progesteron	26
3.3	Analys av LH.....	26
3.3.1	Tolkning av resultaten.....	27
3.4	Analys av data	27
3.5	Litteratursökning	29
4.	Resultat	30
4.1	Progesteron.....	30
4.2	LH.....	30
4.2.1	Witness LH	30
4.2.2	Positiva kontroller	32
4.2.3	LH-peaken	33
5.	Diskussion	34
5.1	Progesteron analyserat med Immulite 2000	34
5.1.1	Urval.....	34
5.1.2	Metod	34
5.2	LH-peaken.....	34
5.3	LH-peak analyserat med Witness LH	35
5.3.1	Metod	35
5.3.2	Resultat.....	36
5.4	Optimal parningsdag och förväntad dräktighetslängd	37
5.5	Konklusion.....	37
	Referenser.....	38
	Populärvetenskaplig sammanfattning	43

Tabellförteckning

Tabell 1. Sammanställning av resultat från olika studier av LH-peakens duration i antal timmar och maximala plasmakoncentrationer i ng/ml. Samtliga koncentrationer är framtagna med analysmetoden RIA.	21
Tabell 2. Sammanställning av resultat från tidigare studier av koncentrationen progesteron (P) i plasma/serum vid tidpunkten för LH-peak respektive ovulation hos tikar. Samtliga värden är framtagna med metoden RIA.	21
Tabell 3. Sammanställning av resultat från färganalysen av fotograferade Witness LH. I tabellen kan färgkoder i formaten HEX samt HSL för vardera test- respektive kontrollinje utläsas. Differens L är skillnaden i ljusstyrka (lightness) mellan test- och kontrollinje.	31
Tabell 4. Sammanställning av resultat från färganalysen av fotograferade Witness LH utförda med serum från kastrerade tikar (positiva kontroller).	33

Figurförteckning

Figur 1. Illustration (av författaren) föreställande regleringen av de reproduktionshormoner berörda i den aktuella studien.	16
Figur 2. Schematisk illustration över förhållandena mellan koncentrationerna av LH, östrogen och progesteron under en reproduktionscykel hos tik. Av författaren, med inspiration från Concannon (2011).	18
Figur 3. Fotografi av testresultat i originalversion ses till vänster och fotografi av testresultat med svartvitt filter ses till höger.....	27
Figur 4. Urklipp från fotografiet med svartvitt filter. Testlinjen ses till vänster och kontrollinjen ses till höger.	28
Figur 5. Urklippet över kontrollinjen ovan infört i program som extraherar samtliga inkluderade kulörer i bilden. Till höger ses kulörerna sorterade från mörkast till ljusast.	28
Figur 6. Presentation av samtliga framtagna progesteronvärden samt dess fördelning inom referensintervallet.	30
Figur 7. Fotografi av Witness LH med positivt resultat enligt testets instruktioner.	32
Figur 8. Sammanställning av resultat från progesteronanalys samt färganalys. Punkterna högst belägna i diagrammet representerar de prover med resultat närmast LH-peak.	33

Förkortningar

CLIA	Chemiluminiscens immunoassay
FSH	Follikelstimulerande hormon
Klin kem	Specialistlaboratoriet för veterinärmedicinsk endokrinologi, klinisk kemi, hematologi och cytologi
LH	Luteiniserande hormon
RIA	Radioimmunoassay
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
UDS	Universitetsdjursjukhuset

1. Inledning

Många tikar som tas till veterinär för misstänkt infertilitet är i självaste verket friska och fertila (England & Concannon 2002); i upp till 80 % av fallen beror den misstänkta infertiliteten på att tiken inte paras vid rätt tidpunkt (Fontbonne 2006). Tikens reproduktionscykel har viloperioder på 3–10 månader (Concannon 2009) vilket medför att hon normalt endast är fertil en till fyra gånger per år. I avelsarbetet är det därför av stor vikt att korrekt kunna förutsäga den tidpunkt då parning eller insemination har störst chans att resultera i en lyckad befruktning och dräktighet.

Flera olika metoder finns och används regelbundet för att fastställa den optimala avelstidpunkten men förutsättningarna skiljer sig mellan olika individer (Feldman & Nelson 2004). En välanvänd metod för att fastställa tidpunkten för när luteiniserande hormon (LH) uppnår maximal nivå är analysering av koncentrationen progesteron i blodet (Kutzler *et al.* 2003; Concannon 2011; Conley *et al.* 2023). Information om denna tidpunkt, även kallad LH-peaken, kan användas för att uppskatta tidpunkten för ägglossning samt den optimala parningsdagen (Kutzler *et al.* 2003).

Samtliga metoder som används inom djursjukvården innebär kostnader för djurägaren och påfrestning på tiken i form av upprepade veterinärbesök, inklusive provtagningar inför parning. Därefter utförs ofta upprepade parningar eller inseminationer för att maximera chanserna för en lyckad befruktning (Feldman & Nelson 2004). Med vetskap om vilken dag befruktningen sker kan dagen för beräknad födsel säkrare fastställas (Concannon *et al.* 1983); det kan i sin tur bidra till minskade problem med dystokier och valpdödlighet genom att djurägaren kan vara mer uppmärksam kring dagen för beräknad födsel och snabbare söka vård vid tecken på problem relaterade till födseln.

På Universitetsdjursjukhuset (UDS) analyseras progesteronkoncentrationer hos tikar med analysinstrumentet Immulite 2000 (Zoetis 2019). Referensintervallen som används är framtagna med en äldre metod, radioimmunoassay, eftersom det i dagsläget saknas fastställda referensintervall för progesteron analyserat med Immulite 2000 vid LH-peaken.

Syftet med studien är att för första gången fastställa vilka progesteronvärden uppmätta med Immulite 2000 som motsvarar LH-peaken hos tik med målet att ta fram säkra referensintervall för användning i klinisk miljö och forskning. Detta för att besvara frågeställningarna om LH-peaken verkligen sker när vi tror samt vilken som är den optimala parningsdagen.

Fördelar som studien förväntas ge är bättre djurvelfärd, minskade kostnader samt ett effektivare avelsarbete. Fysiologiska individuella variationer kommer dock alltid att begränsa möjligheterna att helt optimera avelsarbetet.

2. Litteraturöversikt

2.1 Tikens reproduktionsfysiologi

Den fysiologiska aktiviteten i äggstockarna är cyklisk och regleras av hormonella variationer (Concannon 2011). Under en reproduktionscykel varierar äggstockarnas innehåll och uppbyggnad (Groppetti *et al.* 2015).

2.1.1 Äggstockarnas uppbyggnad

Under en normal cykel innehåller äggstockarna en varierande mängd folliklar, *Corpora lutea* (gulkroppar) och *Corpora hemorrhagica* (blödande gulkroppar) (Durrant *et al.* 1998; Groppetti *et al.* 2015). Folliklar är strukturer innehållande äggceller och deras tillväxt och utveckling kan delas in i fyra olika stadier (Durrant *et al.* 1998). Det första stadiet, primordialfollikeln, innehåller ett lager omogna granulosaaceller som omger en liten äggcell. Nästa stadie, den preantrala follikeln består av en fortsatt liten äggcell men som i stället är omgiven av flera lager granulosaaceller. Det tredje stadiet är den avancerade preantrala follikeln som består av en stor äggcell omgiven av flera lager granulosaaceller. I det sista stadiet, den antrala follikeln, har en vätskefylld vesikel tillkommit mellan lagren av granulosaaceller. Folliklarna hos tiken börjar luteiniseras före ägglossningen, granulosaaceller ersätts då av lutealceller (Concannon *et al.* 2009). *Corpora hemorrhagica* bildas från ovulerade folliklar till följd av invasion av små blodkärl (Groppetti *et al.* 2015). Genom fortsatt luteinisering och celledelning omvandlas *Corpora hemorrhagica* till *Corpora lutea* vilka är tillfälliga endokrina körtlar som utsöndrar progesteron (Walusimbi & Pate 2013).

2.1.2 Reproduktionscykelns faser

Den cykliska aktiviteten i könsmogna äggstockar delas in i fyra faser; proöstrus, östrus, diöstrus och anöstrus (Concannon 2011).

Proöstrus

Proöstrus är fasen som inleder varje reproduktionscykel och pågår normalt i ungefär nio dagar men durationen kan variera mellan 3–17 dagar (Concannon *et al.* 1977; Wildt *et al.* 1978). I äggstockarna ses folliklar av varierande storlek, men den största andelen (82,7 %) är förhållandevis stora folliklar med en diameter på 2–4 mm (Groppetti *et al.* 2015).

Östrus

Östrus är fasen då ägglossning sker. I början av östrus ses den största andelen (52,9 %) stora folliklar på 3,5–5 mm (Groppetti *et al.* 2015). Efter ovulation

består äggstockarna till största delen (42,9 %) av *Corpora hemorrhagica*. Fasen kan pågå från två dagar till över tre veckor, men medellängden är ungefär elva dagar (Wildt *et al.* 1978; Concannon 1986).

Diöstrus

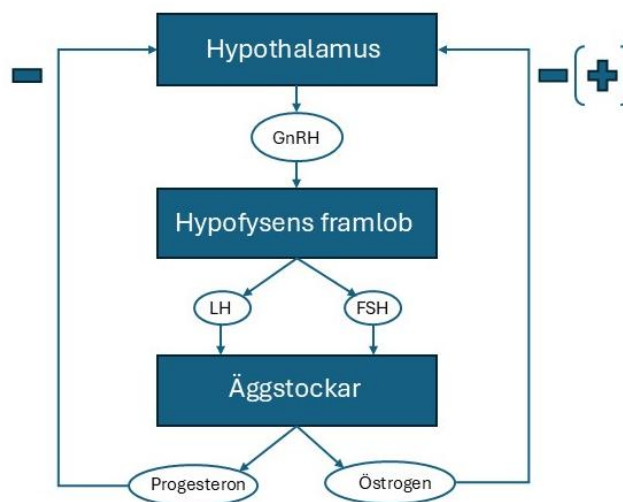
Diöstrus är fasen efter ägglossningen som innefattar dräktighet om fertilisering skett. Äggstockarna består till största delen av *Corpora lutea* (61,4–64,8 %) men även folliklar av varierande storlek som inte ovulerat vid ägglossningen samt *Corpora hemorrhagica* (Groppetti *et al.* 2015). Diöstrus pågår så länge *Corpora lutea* finns kvar vilket är ungefär lika länge hos en icke dräktig tik som hos en dräktig, omkring två månader (Concannon *et al.* 1975; de Gier *et al.* 2008).

Anöstrus

Anöstrus är reproduktionscykelns vilofas. Under den fasen ses endast små folliklar i äggstockarna (Groppetti *et al.* 2015). Den kan pågå i 3–10 månader (Concannon 2009).

2.1.3 Reproduktionshormonerna och deras reglering

Koncentrationen av reproduktionshormonerna hos tiken styrs av ett komplext endokrinologiskt samspel mellan hypothalamus, hypofysens framlob och äggstockarna (Klein *et al.* 2003) vilket illustreras i figur 1.



Figur 1. Illustration (av författaren) föreställande regleringen av de reproduktionshormoner berörda i den aktuella studien.

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

GnRH frisätts från hypothalamus och har som funktion att stimulera hypofysens framlob att frisätta könshormonerna LH och FSH (Rijnberk 1996; Tani *et al.* 1996). Frisättningen av GnRH regleras bland annat av östrogeners och progesterons negativa feedback samt östrogeners, under vissa förhållanden, positiva feedback på hypothalamus (José López *et al.* 2000). GnRH frisätts pulsatilt under hela reproduktionscykeln men en ökad frekvens ses i slutet av proöstrus och i slutet av anöstrus (Tani *et al.* 1996). Van Haaften *et al.* (1994) visar att hypofysen i slutet av anöstrus också har en ökad känslighet för GnRH.

Luteiniserande hormon (LH)

LH stimulerar tillväxt av folliklar i äggstockarna (Okkens & Kooistra 2006). Frisättningen av LH följer frisättningen av GnRH vilket innebär att en ökad plasmakoncentration ses sent under anöstrus (Tani *et al.* 1996). Denna ökning tros vara avgörande för initieringen av en ny cykel eftersom den orsakar en follikelaktivering följt av en ökad östrogenkoncentration (Tani *et al.* 1999). LH-peaken utlöser ägglossningen och ses i början av östrus (Steckler *et al.* 2013) alternativt i slutet av proöstrus (Tani *et al.* 1996). En schematisk illustration över variationerna i koncentrationen LH under en reproduktionscykel visas i figur 2.

Follikelstimulerande hormon (FSH)

FSH är framför allt nödvändigt för den tidiga follikelutvecklingen i äggstockarna (Okkens & Kooistra 2006). Koncentrationen av FSH följer i stort sett den hos LH under reproduktionscykeln, under anöstrus uppnår dock FSH betydligt högre koncentrationer (Concannon 2011).

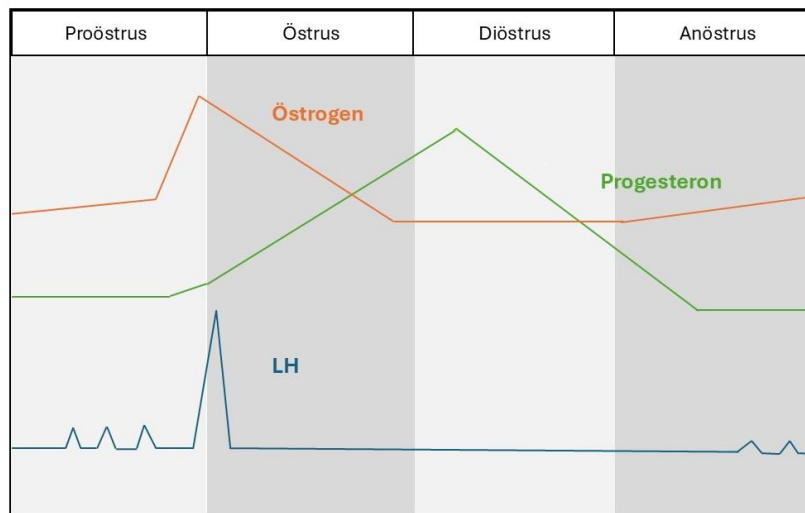
Östrogen

Östrogen förbereder tikens reproduktionsorgan inför parning och dräktighet (Sjaastad *et al.* 2010). I takt med att folliklar växer till stiger koncentrationen östrogen i blodet (de Gier *et al.* 2006). Maximala nivåer östrogen ses två till noll dagar innan LH-peaken (Concannon *et al.* 1975). Samtidigt som progesteron ökar sker en minskning av östrogen (de Gier *et al.* 2006), se figur 2.

Progesteron

Progesteron har funktioner som möjliggör och bevarar dräktighet (Walusimbi & Pate 2013). Koncentrationen progesteron börjar stiga före ägglossningen då folliklarna börjar luteiniseras (Chastant-Maillard *et al.* 2011; Conley *et al.* 2023). När *Corpora lutea* bildas sker en kraftig ökning av progesteron (de Gier *et al.* 2006). Från tiden innan ovulation till tiden efter ovulation sker en ökning av serumkoncentrationen progesteron med fyra till sex gånger (Groppetti *et al.* 2015). Progesteronkoncentrationen är som högst initialt under diöstrus och

sjunker sedan gradvis i takt med att *Corpora lutea* tillbakabildas och diöstrus övergår i anöstrus, se figur 2. Vid jämförelse av progesteronkoncentrationen under diöstrus hos dräktiga och icke-dräktiga tikar ses inga signifikanta skillnader (Concannon *et al.* 1975). Under anöstrus är progesteronkoncentrationen som lägst (Groppetti *et al.* 2015).



Figur 2. Schematisk illustration över förhållandena mellan koncentrationerna av LH, östrogen och progesteron under en reproduktionscykel hos tik. Av författaren, med inspiration från Concannon (2011).

2.2 Metoder för bedömning av cykliskt stadie

För en tik som planeras att användas i avel finns flertalet metoder för att bedöma i vilket av de ovan nämnda stadierna en tik befinner sig och identifiera den optimala avelstidpunkten (Feldman & Nelson 2004). Till följd av individuella variationer är det viktigt att få en sammanfattad bild utifrån flera av nedanstående faktorer. På UDS används till exempel en kombination av vaginalcytologi och progesteron.

2.2.1 Fysiska tecken

Fysiska tecken på att tiken befinner sig i proöstrus inkluderar svullnad av vulva och blodiga flytningar (Bergeron *et al.* 2013; Groppetti *et al.* 2015) till följd av den ökade östrogenkoncentrationen (Concannon 2011). Metoden att observera fysiska tecken begränsas dock hos vissa individer av så kallade tysta lopp vilket innebär att de fysiska tecknen uteblir. Till författarens kännedom saknas studier av prevalensen för tysta lopp hos tikar. I takt med att östrogen sjunker under östrus ses i många fall en minskad svullnad av vulva (Concannon 2011).

Hur diöstrus uppträder fysiologiskt kan variera mellan olika individer (Tsutsui *et al.* 2007) men gemensamt för tikar under diöstrus är att de inte längre är parningsvilliga (Kustritz 2012). Både dräktiga och icke-dräktiga (skendräktiga) tikar kan uppvisa mer eller mindre dräktighetssymtom. Det vanligaste symtomet hos tikar under diöstrus är förstoring av mjölkkörtlar i juvren och i en del fall även mjölkproduktion.

2.2.2 Beteendeförändringar

En faktor som indikerar att tiken befinner sig i östrus är att hon visar parningsvillighet genom att ställa upp sig för hanen med svansen åt sidan (Concannon 1986). Det typiska östrusbeteendet initieras av en samtidig ökning av progesteron och minskning av östrogen (Concannon *et al.* 1977). Denna beteendeförändring har dock påvisats mellan tre dagar innan och fem dagar efter ägglossning vilket gör metoden att observera beteenden till en osäker ensam indikator för den optimala avelstidpunkten (England & Concannon 2002).

2.2.3 Vaginalcytologi

Vaginalcytologi kan användas som indikation på var i reproduktionscykeln tiken befinner sig då cykelns varierande hormonkoncentrationer påverkar vaginalcellernas utseende (Kustritz 2012). Vaginalslemhinnan består av fyra sorters epitelceller; parabasalceller, intermediärceller samt superficialceller med eller utan cellkärna. Parabasalcellen och intermediärcellen är runda celler utan förhornning med tydlig cellkärna, parabasalcellen är mindre än intermediärcellen. Superficialcellen är förhornad och deformerad med eller utan cellkärna. Dessa bildas då slemhinnan förtjockas till följd av ökad östrogenkoncentration i serum.

Cykliska variationer

Under proöstrus ses parabasalceller och en successiv ökning av erytrocyter i vaginalutstryket (Groppetti *et al.* 2015). Gällande vaginalutstryk under östrus är olika studier inte helt överens. Typiskt för vaginalutstryk under östrus är att superficialceller dominerar (90–100 %) (Kutzler *et al.* 2003; Bergeron *et al.* 2014) och över 80 % av cellkärnorna är förminskade eller saknas (Bergeron *et al.* 2014). Även erytrocyter ses men de är färre än under proöstrus (Kutzler *et al.* 2003). Under diöstrus ses färre superficialceller och fler intermediärceller samt leukocyter (Groppetti *et al.* 2015). Cellutstryk under anöstrus är cellfattiga. Reckers *et al.* (2022) visar att reproduktionscykelns faser klassas efter förekomsten av de olika epitelcellerna samt röda och vita blodkroppar men att definitionen av de olika cellerna skiljer sig mellan olika studier. Bedömningen av cellerna i vaginalutstryk varierar också mellan olika veterinärer (Arlt 2018).

2.2.4 Analys av progesteron

Mätning av progesteron i blodet är en beprövad metod för att fastställa tidpunkten för LH-peak och ägglossning hos tikar (Hase *et al.* 2000; de Gier *et al.* 2006). Att använda metoden ensam är dock varken praktiskt eller etiskt försvarbart eftersom den medför ett invasivt ingrepp i form av blodprov som behöver upprepas dagligen.

2.2.5 Ultraljud

Ultraljud med färgdoppler av äggstockarna kan användas för att fastställa tidpunkten för LH-peaken (Bergeron *et al.* 2013). Hos 83 % av undersökta tikar ses en signifikant ökad (1,8 gånger) blodgenomströmning, i minst en av äggstockarna, dagen efter LH-peaken jämfört med dagen för LH-peaken. Utmaningar med metoden är att hitta äggstockarna med ultraljudet och att dessutom få en tydlig bild av blodflödet eftersom det kräver att tiken ligger still på rygg. Ytterligare nackdelar med metoden är att den kräver daglig upprepning samt kompetent personal. Att fastställa tidpunkten för ägglossning med ultraljud är svårt eftersom folliklar före ovulation har liknande utseende som folliklar som precis ovulerat, både folliklarna och nybildade *Corpora lutea* är nämligen vätskefyllda (Hollins-head & Hanlon 2019). Hase *et al.* (2000) beskriver förändringar i form och minskad follikelstorlek i samband med ägglossning hos 54 % av undersökta tikar.

2.3 LH-peaken och ovulation

Tikens ägglossning sker normalt 48–60 timmar efter LH-peaken (Concannon 2011) och kan pågå i 24–36 timmar (Groppetti *et al.* 2015). Genom laparoskopi av äggstockar hos tikar har Wildt *et al.* (1978) visat att incidensen för ägglossning är högst 24–72 timmar efter LH-peaken. Mätning av LH-koncentrationen i blodet är den mest exakta metoden för att förutsäga tiden för ägglossning (Forsberg & Reynaud 2012).

2.3.1 LH-peakens duration samt koncentrationen LH

Studier visar varierande resultat för hur länge LH-peaken pågår samt maximala koncentrationer LH i plasma (se tabell 1). Av de varierande värdena (12–96 h respektive 4,4–90,3 ng/ml) att döma finns kraftiga individuella variationer gällande LH-värdena vid LH-peaken. I 16 % av fallen förekommer en tvådelad LH-peak (Wildt *et al.* 1978), samma fynd har även gjorts av de Gier *et al.* (2006) hos två tredjedelar av undersökta tikar. För att inte missa perioden för LH-peaken krävs blodprovstagning och analys av LH flera gånger dagligen (Hase *et al.* 2000).

Tabell 1. Sammanställning av resultat från olika studier av LH-peakens duration i antal timmar och maximala plasmakoncentrationer i ng/ml. Samtliga koncentrationer är framtagna med analysmetoden RIA.

Maximal LH (ng/ml)	Duration LH-peak (h)	Referens
13,6–42,4	12	Hase et al. 2000
12,9–24,5	31–41	De Gier et al. 2006
4,4–11,1	18–48	Concannon et al. 1975 & 1977
11–90,3	84–96	Wildt et al. 1978

2.3.2 Koncentrationen progesteron vid LH-peaken

En mer tillämpbar metod för att fastställa tidpunkten för LH-peaken, både ekonomiskt och praktiskt, är analysering av progesteron (Forsberg & Reynaud 2012). På UDS anses serumkoncentrationen 6–9 nmol/L motsvara LH-peaken och 12–24 nmol/L ovulation. Referensvärdet baseras på intervall som nämns i boken *The Genetics of the Dog* (Forsberg & Reynaud 2012). Även Steckler *et al.* (2013) använder intervallet som ekvivalent till LH-peaken. Författaren av denna text har inte kunnat hitta någon publicerad studie eller artikel som beskriver fastställande av LH-peaken med hjälp av progesteron analyserat med Immulite 2000. Däremot finns det flertalet studier som använt andra analysmetoder (se tabell 2). Sammanfattningsvis är resultaten från befintliga studier varierande, visserligen är de inte helt skilda från intervallen som används på UDS men ingen studie har hittats som presenterar intervallet 6–9 nmol/L för LH-peaken respektive 12–24 nmol/L för ovulation.

Tabell 2. Sammanställning av resultat från tidigare studier av koncentrationen progesteron (P) i plasma/serum vid tidpunkten för LH-peak respektive ovulation hos tikar. Samtliga värden är framtagna med metoden RIA.

P vid LH-peak (nmol/L)	P vid ovulation (nmol/L)	Referens
4,8–14,6	10,2–35,0	Bergeron et al. 2013
7,2–9,1	14,3–20,3	Concannon et al. 1977
5,3–8,7	9,5–25,7	Fontbonne 2008
1,9–3,9	6,0–8,9	Hase et al. 2000

2.4 Fertilisering och dräktighet

2.4.1 Oocyternas mognad och överlevnad

Vid tikens ägglossning är oocyterna omogna. För att befruktning ska vara möjligt behöver omogna metafase I oocyter omvandlas till mogna metafase II oocyter i äggledaren (Reynaud *et al.* 2006). Metafase II oocyter har observerats mellan 54 och 127 timmar efter att ägglossning detekterats med ultraljud (Reynaud *et al.* 2005). I samma studie observerades fertilisering från 83 timmar efter ägglossning i 90 % av fallen. Mognaden tar två och en halv till tre dagar (Concannon 2000), vilket medför att de mognar ungefär fyra och en halv till fem dagar efter LH-peaken. De mogna oocyternas överlevnad har uppskattats till endast en till två dagar hos en del individer (Concannon 2000). I mer sällsynta fall har det visat sig att mogna oocyter överlevt i sju till åtta dagar efter mognad.

2.4.2 Spermiernas mognad och överlevnad

Efter naturlig betäckning kan spermier överleva och fortsatt vara fertila i minst sju dagar (Phyllis *et al.* 1974). Innan spermier kan fertilisera oocyterna behöver de befinna sig i livmodern i sju timmar för att genomgå kapacitering vilket är ett sista mognadssteg som krävs för att de ska kunna penetrera oocyternas *zona pellucida* (Mahi & Yanagimachi 1976). Ett långt geografiskt avstånd mellan tiken och hanen eller att individerna inte fungerar ihop är exempel på orsaker till att naturlig betäckning inte alltid är möjlig (Feldman & Nelson 2004).

Sperma är känslig för kyla och UV-ljus och kräver försiktig hantering efter att den samlats (Feldman & Nelson 2004). Sperma som samlats från hanen för att insemineras färsk bör insemineras inom 15 minuter för att behålla sin förmåga att fertilisera. Insemination med färsk sperma leder till 80 % lyckade valpningar vilket kan jämföras med fryst sperma där motsvarande värde är 71 % (Hollinshead & Hanlon 2017). Odds för lyckad befruktning, vid användning av fryst sperma, är högst om tiken insemineras sex dagar efter LH-peaken, 16,7 gånger högre än dag fem och 4,2 gånger högre än dag sju (Steckler *et al.* 2013).

2.4.3 Förväntad dräktighetslängd

Korrekt identifiering av LH-peaken är den säkraste metoden för att beräkna förväntad dag för förlossning. Räknat från LH-peaken är en fullgången dräktighet hos tik 65 +/- 1 dagar (Concannon *et al.* 1983). Räknat från första parning eller insemination kan dräktighetslängden däremot variera så mycket som 14 dagar.

2.5 Effekten av kastration på LH-koncentrationen

Hos en kastrerad tik, där äggstockarna är borttagna, är serumkoncentrationen av LH genomgående betydligt högre än hos en intakt tik (Olson *et al.* 1992). En tänkbar förklaring till detta är en utebliven negativ feedback från progesteron på hypotalamus. Olson *et al.* (1992) konstaterar i sin studie att koncentrationen LH hos 25 undersökta kastrerade tikar aldrig var lägre än 8,0 ng/ml. Witness LH har använts för att utvärdera kastrationsstatus hos honkatter med okänd historik (Rohlertz *et al.* 2012). I studien var resultatet för Witness LH positivt för 14/15 kastrerade honkatter.

2.6 Metoder för analys av progesteron

2.6.1 Radioimmunoassay (RIA)

Analysmetoden RIA var länge förstahandsvalet och användes som standard vid analysering av progesteron hos tikar (Fraser *et al.* 2015). RIA är en kvantitativ mätning (Kustritz 2012) av radioaktivitet som bildas vid kemiska reaktioner mellan antikroppar och antigener (WHO 2003). Metoden har använts i många av de studier som undersökt progesteronvärdet vid LH-peaken (Concannon *et al.* 1975; Olson *et al.* 1982; Bergeron *et al.* 2013). Vid analys med RIA tillsätts serum till antikroppar för progesteron (WHO 2003). Under inkubering reagerar sedan eventuella antigener på progesteron med antikropparna. Därefter tillsätts antikroppar konjugerade med ett radioaktivt ämne som fäster till antigen-antikropps-komplexen. Mängden progesteron fastställs genom att den uppmätta radioaktivitet som ackumuleras omvandlas genom scintillation. Fördelarna med RIA är att metoden ger exakta och upprepningsbara värden (Fraser *et al.* 2015). Däremot kräver analysen transport till ett laboratorium med speciell utrustning och kan alltså inte utföras snabbt i nära anslutning till patienten. Dessutom innebär analysen användning av och risk för exponering för radioaktiva ämnen. Nackdelarna med analysmetoden har gjort att andra metoder för mätning av progesteron har tagit över som förstahandsval.

2.6.2 Chemiluminescent immunoassay (CLIA)

CLIA är en nyare analysmetod som används mer och mer inom veterinärmedicin för analysering av progesteron. Kemiluminiscens är en kvantitativ mätning av ljuset som bildas vid kemiska reaktioner mellan antikroppar och antigener (Tal *et al.* 2020). Det finns olika varianter och tillverkare av instrument som använder kemiluminiscens varav en är Immulite 2000. Immulite 2000 används både inom human- och veterinärmedicin för analys av bland annat hormoner. Vid analys av progesteron tillsätts, enligt bruksanvisningen (Siemens Healthineers 2025b), en fast fas innehållande antikroppar mot progesteron och provmaterial innehållande

progesteron som antigen. Därefter tillsätts ett enzym-konjugat som binder till antikropparna. Till sist tillsätts ett kemiluminiscent substrat som vid reaktion med enzym-konjugatet avger energi i form av ljus. Ljuset som avges kan sedan avläsas för att erhålla ett progesteronvärde.

2.6.3 Jämförelse av resultat med RIA och CLIA

I en studie av Nöthling och De Cramer (2018) jämförs progesteronkoncentrationen i serum analyserat med Immulite 1000 LKPW1 med koncentrationen i plasma från samma tik uppmätt med RIA. Resultatet visar att koncentrationen i 88 % av proverna uppmättes till 15 % lägre med Immulite än med RIA. I en liknande studie analyseras progesteronkoncentrationen i serum med både Immulite och RIA. Vid jämförelse av resultaten gav Immulite signifikant högre värden (Chapwanya *et al.* 2008). Vilken version av Immulite som använts redovisas dock inte. Tal *et al.* (2020) har jämfört Immulite 2000 med RIA, även här har resultaten med Immulite varit högre än de från RIA utförda på samma serumprover.

2.7 Metoder för analys av LH

2.7.1 Witness LH test

Witness LH är ett snabbtest för mätning av LH hos hund och katt (Zoetis 2019). Testet är semikvantitativt och kan i kombination med analys av progesteron användas för att identifiera LH-peaken. I en studie av Santos *et al.* (2012) användes testet på tio tikar och bedömdes utifrån resultaten vara tillförlitligt för att fastställa den optimala avelstidpunkten. Witness LH är en immunkromatografisk metod vilket innebär att testet innehåller specifika antikroppar som binder till hormonet i det tillsatta serumet. Komplexen migrerar sedan längs ett membran för att till sist ackumuleras i testets reaktionszon. Om provet innehåller mer än 1 ng/ml LH uppstår en röd linje av samma eller högre intensitet än kontrollinjen, detta klassas som förekomst av LH-peak.

2.7.2 Radioimmunoassay (RIA)

På liknande sätt som för progesteron kan även koncentrationen LH i plasma mätas med metoden RIA (Wildt *et al.* 1978; Hase *et al.* 2000; de Gier *et al.* 2006). I många äldre studier där värden för LH-koncentration tagits fram har RIA använts. Någon studie från det senaste decenniet där metoden använts för att undersöka LH hos hund finns inte till författarens kännedom.

2.7.3 Chemiluminescent immunoassay (CLIA)

LH kan även analyseras med CLIA med hjälp av Immulite 2000 (Siemens Healthineers 2025a). Till författarens vetskap saknas dock studier där LH analyserats med denna metod hos hund.

2.7.4 Jämförelse av resultat med Witness LH för validering

Till författarens kännedom saknas oberoende studier som validerat funktionen av Witness LH genom jämförelse med RIA eller någon annan motsvarande metod för fastställande av koncentrationen LH. Även information om testets sensitivitet, specificitet eller förmåga att påvisa förekomsten av LH-peak hos tik saknas.

3. Material och metoder

3.1 Urval och material

För studien har serumprover samlats in från hundar som besökt UDS för att mäta progesteronkoncentrationen i blodet inför parning alternativt insemination. Totalt insamlades 38 prover med progesteronkoncentration inom intervallet 2–12 nmol/L.

Provtagning och hantering av provmaterial

Blodprover har tagits med bibehållen aseptik av personal utbildad inom djursjukvård enligt förekommande rutiner vid UDS. Venöst blod har tagits med vacutainer från *Vena cephalica* eller *Vena saphena* i serumrör av sorten BD Vacutainer® SST II Advance. Efter överlämning av provet till Specialist-laboratoriet för veterinärmedicinsk endokrinologi, klinisk kemi, hematologi och cytologi (klin kem) på UDS har blodprovet koagulerat i 30 minuter. Därefter har det centrifugerats i 3500 rpm under 5 minuter och sedan har serumet överförts till ett rör utan tillsatser anpassat för direkt efterföljande analys av progesteron. Efter analys av progesteron placerades serumet i -20°C fram till analys av LH.

3.2 Analys av progesteron

Analys av koncentrationen progesteron har genomförts på färskt serum av personal på klin kem. För analysen har Immulite 2000 XPi använts enligt tillverkarens instruktioner. Manuell validering av resultatet har utförts av personal på laboratoriet.

3.3 Analys av LH

För analys av LH användes snabbtestet Witness LH av författaren till studien enligt tillverkarens instruktioner. Analysen genomfördes på anonymiserat serum som förvarats i fryn i 1–10 månader. Tre till fyra serumprover tinades åt gången i rumstemperatur. Testen togs ur förpackningen och placerades på en plan yta utan att membranet vidrördes. Enligt de medföljande instruktionerna pipetterades därefter fyra droppar serum till den avsedda ytan på testen inom tio minuter. För varje prov användes ett nytt test samt en medföljande steril pipett. Testet lämnades därefter på den plana ytan och resultatet avlästes efter 20 minuter. För de första 22 analyserade proverna genomfördes parade tester för validering av LH-testet. Överblivet serum förvarades i kyl fram tills önskat antal giltiga resultat erhållits för vardera prov.

3.3.1 Tolkning av resultaten

Avläsning av resultatet gjordes enligt tillverkarens instruktioner. Ett negativt resultat innebär att endast en kontrollinje är synlig alternativt att kontrollinjen är av högre intensitet än testlinjen efter 20 minuter. Ett positivt resultat innebär att en synlig testlinje är av samma eller högre intensitet än kontrollinjen. Inga synliga linjer efter 20 minuter innebär att testet är ogiltigt. Vid avläsningen av resultatet togs fotografier som sparades i kontrollsyfte.

3.4 Analys av data

Samtliga fotografier gjordes svartvita med hjälp av ett filter i Microsofts fotobehandlingsprogram (se figur 3). Ett urklipp gjordes från bilden över testlinjens respektive kontrollinjens mest centrala delar så att inget utöver linjen och den vita bakgrunden inkluderades i bilden (se figur 4).



Figur 3. Fotografi av testresultat i originalversion ses till vänster och fotografi av testresultat med svartvitt filter ses till höger.



Figur 4. Urklipp från fotografiet med svartvitt filter. Testlinjen ses till vänster och kontrollinjen ses till höger.

Bilderna infogades därefter i en "Portable Network Graphics (PNG) color palette extractor" vilken extraherade alla kulörer inkluderade i bilden (se figur 5), sorterade dessa från mörkast till ljusast samt angav färgernas HEX-koder. Den mörkaste färgens HEX-kod omvandlades till HSL. HSL är en engelsk förkortning för Hue, Saturation & Lightness. H är ett gradtal för en kulör i färghjulet, S är färgens intensitet procentuellt och L är färgens ljusstyrka i procent. Det svartvita filtret medför att H och S blir noll för samtliga bilder. Skillnaden i L mellan testlinjen och kontrollinjen för varje test beräknades och angavs i antal pro-centenheter.



Figur 5. Urklippet över kontrollinjen ovan infört i program som extraherar samtliga inkluderade kulörer i bilden. Till höger ses kulörerna sorterade från mörkast till ljusast.

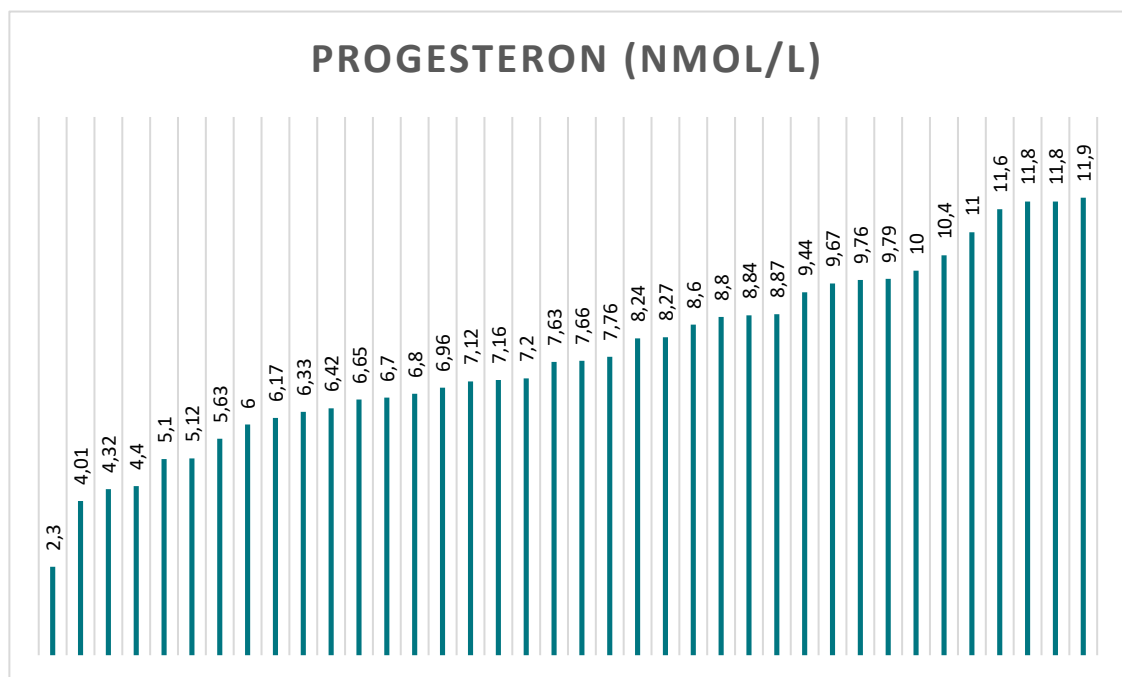
3.5 Litteratursökning

För litteraturstudien har relevant material inhämtats från databaserna Web Of Science, Scopus och Google scholar. Initialt har sökorden "Progesterone", "LH", "LH-peak", "Immuline 2000", "Bitch", "RIA", "CLIA", "Infertility" använts. Vidare inhämtning av material har gjorts från artiklar refererade till i de redan använda artiklarna. I enstaka fall har Scite.ai använts för att finna referenser till specifika frågeställningar, originalkällan har i samtliga fall granskats innan information använts.

4. Resultat

4.1 Progesteron

Progesteronkoncentrationerna i serumproverna analyserade med Immulite 2000 varierade mellan 2,3 och 11,9 nmol/L (se figur 6). Prover med progesteron mellan 2,3 och 4,01 nmol/L saknas. Utöver det är progesteronkoncentrationerna jämnt fördelade inom det önskade intervallet.



Figur 6. Presentation av samtliga framtagna progesteronvärden samt dess fördelning inom referensintervallet.

4.2 LH

4.2.1 Witness LH

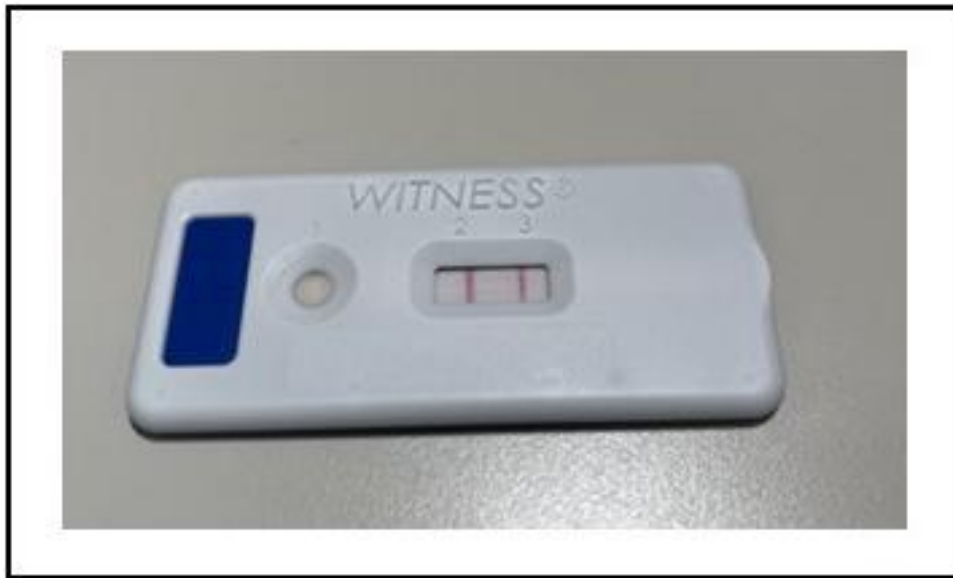
Alla test förutom ett bedömdes giltiga enligt testinstruktionerna då de uppvisade en rosa/röd kontrollinje. Det ogiltiga testet uteslöts från resultaten och ersattes med ett giltigt resultat från ett nytt test. Resultaten presenteras i tabell 3.

Tabell 3. Sammanställning av resultat från färganalysen av fotograferade Witness LH. I tabellen kan färgkoder i formaten HEX samt HSL för vardera test- respektive kontrollinje utläsas. Differens L är skillnaden i ljusstyrka (lightness) mellan test- och kontrollinje.

Labbnr	Progesteron (nmol/L)	HEX testlinje	HSL testlinje	HEX kontrollinje	HSL kontrollinje	Differens L (procentenheter)
25-25355	2,3	#c0c0c0	(0, 0%, 75%)	#454545	(0, 0%, 27%)	48
25-02315	4,01	#a5a5a5	(0, 0%, 65%)	#393939	(0, 0%, 22%)	43
25-06141	4,32	#9f9f9f	(0, 0%, 62%)	#5a5a5a	(0, 0%, 35%)	27
25-22893	4,4	#b5b5b5	(0, 0%, 71%)	#4c4c4c	(0, 0%, 30%)	41
25-25204	5,1	#b6b6b6	(0, 0%, 71%)	#5f5f5f	(0, 0%, 37%)	34
25-00168	5,12	#b5b5b5	(0, 0%, 71%)	#4c4c4c	(0, 0%, 30%)	41
25-00569	5,63	#b9b9b9	(0, 0%, 73%)	#3d3d3d	(0, 0%, 24%)	49
25-22452	6	#cacaca	(0, 0%, 79%)	#474747	(0, 0%, 28%)	51
25-05159	6,17	#cecece	(0, 0%, 81%)	#4d4d4d	(0, 0%, 30%)	51
25-01037	6,33	#aeaeae	(0, 0%, 68%)	#606060	(0, 0%, 38%)	30
25-00152	6,42	#a4a4a4	(0, 0%, 64%)	#464646	(0, 0%, 27%)	37
25-23826	6,65	#c9c9c9	(0, 0%, 79%)	#393939	(0, 0%, 20%)	57
25-24270	6,7	#c7c7c7	(0, 0%, 78%)	#6e6e6e	(0, 0%, 43%)	35
25-24831	6,8	#d8d8d8	(0, 0%, 85%)	#626262	(0, 0%, 38%)	47
25-03553	6,96	#cdcdcd	(0, 0%, 80%)	#484848	(0, 0%, 28%)	52
25-03487	7,12	#c2c2c2	(0, 0%, 76%)	#4c4c4c	(0, 0%, 30%)	46
25-17639	7,16	#cbcbcb	(0, 0%, 80%)	#646464	(0, 0%, 39%)	41
25-21900	7,2	#d3d3d3	(0, 0%, 83%)	#6b6b6b	(0, 0%, 42%)	41
25-23468	7,63	#c1c1c1	(0, 0%, 76%)	#323232	(0, 0%, 20%)	56
25-02943	7,66	#b8b8b8	(0, 0%, 72%)	#505050	(0, 0%, 31%)	41
25-03423	7,76	#c5c5c5	(0, 0%, 77%)	#646464	(0, 0%, 39%)	38
24-26703	8,24	#b7b7b7	(0, 0%, 72%)	#3a3a3a	(0, 0%, 23%)	49
25-24013	8,27	#adadad	(0, 0%, 68%)	#383838	(0, 0%, 20%)	46
25-25363	8,6	#d7d7d7	(0, 0%, 84%)	#4a4a4a	(0, 0%, 29%)	55
25-22744	8,8	#d2d2d2	(0, 0%, 82%)	#5c5c5c	(0, 0%, 36%)	46
24-26276	8,84	#bababa	(0, 0%, 73%)	#575757	(0, 0%, 34%)	39
24-25175	8,87	#bbbbbb	(0, 0%, 73%)	#575757	(0, 0%, 34%)	39
24-26278	9,44	#cbcbcb	(0, 0%, 80%)	#565656	(0, 0%, 34%)	46
24-25276	9,67	#c6c6c6	(0, 0%, 78%)	#393939	(0, 0%, 22%)	56
25-04008	9,76	#cbcbcb	(0, 0%, 80%)	#555555	(0, 0%, 33%)	47
25-03393	9,79	#dbdbdb	(0, 0%, 86%)	#626262	(0, 0%, 38%)	48
25-02616	10	#d1d1d1	(0, 0%, 82%)	#555555	(0, 0%, 33%)	49
25-21317	10,4	#cccccc	(0, 0%, 80%)	#5d5d5d	(0, 0%, 36%)	44
25-22749	11	#c0c0c0	(0, 0%, 75%)	#4e4e4e	(0, 0%, 31%)	44
25-03960	11,6	#d5d5d5	(0, 0%, 84%)	#434343	(0, 0%, 26%)	58
25-06926	11,8	#d6d6d6	(0, 0%, 84%)	#666666	(0, 0%, 40%)	44
25-19894	11,8	#d7d7d7	(0, 0%, 84%)	#5b5b5b	(0, 0%, 36%)	48
25-01838	11,9	#dbdbdb	(0, 0%, 86%)	#585858	(0, 0%, 35%)	51

4.2.2 Positiva kontroller

Som positiva kontroll av Witness LH användes serum från fyra, enligt uppgift från klin kem, kastrerade tikar. Resultaten presenteras i tabell 4. För ett av proverna erhöles ett, enligt testets instruktioner, positivt resultat (se figur 7). Resultatet för differensen i L var i detta fall 0.



Figur 7. Fotografi av Witness LH med positivt resultat enligt testets instruktioner.

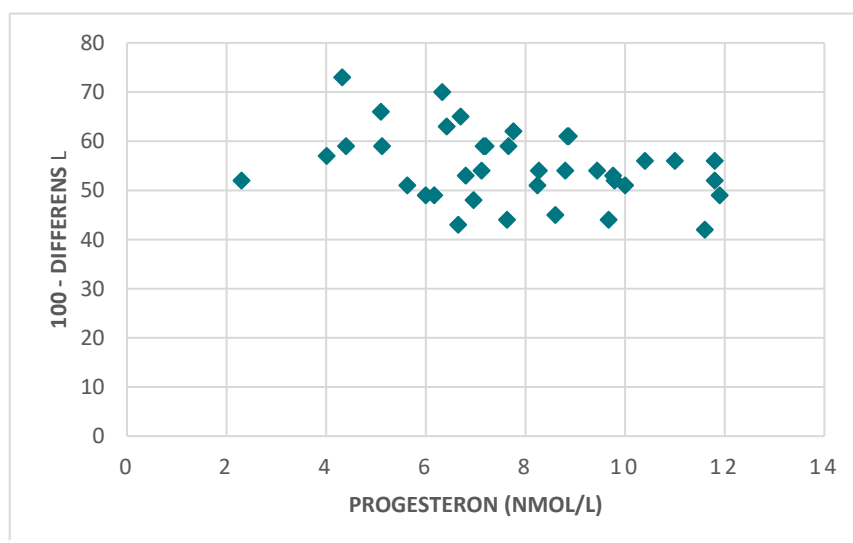
Enligt instruktionen för Witness LH ska ett positivt test ha en testlinje av samma eller högre intensitet än kontrollinjen vilket i den här studien innebär en differens $\leq$ noll. Två av proverna bedömdes okulärt som positiva, trots att färganalysen gav resultaten 2 respektive 8 procentenheters differens mellan test- och kontrollinje och att de därmed är negativa enligt testinstruktionerna bedömdes dessa prover som positiva på grund av de jämförelsevis små differenserna. Den fjärde positiva kontrollen gav ett resultat med stor differens (46 procentenheter) vilket innebär att ett förväntat högt LH-värde inte förelåg hos den provtagna tiken.

Tabell 4. Sammanställning av resultat från färganalysen av fotograferade Witness LH utförda med serum från kastrerade tikar (positiva kontroller).

Labbnr	HEX testlinje	HSL testlinje	HEX kontrollinje	HSL kontrollinje	Differens L (procentenheter)
25-22898	#7a7a7a	(0, 0%, 48%)	#666666	(0, 0%, 40%)	8
25-24509	#5a5a5a	(0, 0%, 35%)	#555555	(0, 0%, 33%)	2
25-24336	#858585	(0, 0%, 52%)	#848484	(0, 0%, 52%)	0
25-24420	a8a8a8	(0, 0%, 66%)	#343434	(0, 0%, 20%)	46

4.2.3 LH-peaken

Vid analys av 38 separata serumprover för fastställande av LH-peaken med Witness LH erhöles inget positivt resultat för LH-peak. I figur 8 presenteras resultaten av en jämförelse mellan provernas resultat för progesterontestet och Witness LH. Differensen i L har för alla prover omvandlats till $100 - L$ för att få proverna med resultat närmast LH-peaken högst upp i diagrammet. Minst differens sågs för provet med en serumkoncentration av progesteron på 4,32 nmol/L (62-35= 27 procentenheter). Även för provet med progesteron på 6,33 nmol/L sågs en relativt liten differens (68-38 = 30 procentenheter). Inom intervallet 4–5,12 nmol/L har samtliga prover en relativt liten differens samtidigt som variationen i differensen är liten.



Figur 8. Sammanställning av resultat från progesteronanalys samt färganalys. Punkterna högst belägna i diagrammet representerar de prover med resultat närmast LH-peak.

5. Diskussion

Syftet med studien var att undersöka om LH-peaken hos tik sker när man tror, vid en serumkoncentration av progesteron på 6–9 nmol/L. För analys av progesteron användes Immulite 2000 och för att påvisa förekomsten av LH-peaken användes snabbtestet Witness LH.

5.1 Progesteron analyserat med Immulite 2000

5.1.1 Urval

Serumproverna som ingår i studien kommer från patienter som besökt reproduktionskliniken på UDS av andra, för studien okända, orsaker vilket gör att urvalet inte kunnat göras slumpmässigt. Samtliga prover på UDS sparas i frys i en månad efter progesteronanalysen. Urvalet av prover till studien gjordes utifrån uppmätta progesteronkoncentrationer i serum. Inledningsvis sparades alla prover inom intervallet 3–12 nmol/L för att få med prover med god marginal runt den förväntade LH-peaken. Efter den första testomgången sågs minst differens mellan test- och kontrollinje vid progesteron runt 4 nmol/L. Därför sänktes intervallet för sparade prover till 2–11 nmol/L fortsättningsvis.

5.1.2 Metod

Analysen av progesteron med Immulite 2000 genomfördes av laboratoriepersonal. Metoden valideras och kontrolleras regelbundet. Vid ett tillfälle sparades ett prov med progesteronkoncentration utanför det önskade intervallet, detta resultat exkluderades från studien. Flera sparade prover kasserades av misstag vilket minskade studiematerialet.

5.2 LH-peaken

Som tidigare nämnts visar tidigare studier att koncentrationen LH vid LH-peaken kan variera från 4,4 till 90,0 ng/ml. Att LH-peaken skulle förekomma vid en koncentration under 1 ng/ml finns det alltså inget som tyder på. Witness LH ska enligt tillverkaren påvisa ökning av koncentrationen LH så låga som 1 ng/ml och metoden kan därmed förväntas vara lämplig för påvisande av LH-peaken. Däremot finns till författarens vetskap ingen studie som visar hur väl testet fungerar för att detektera LH-peaken hos tik. Även durationen för LH-peaken kan som bekant variera från 12 till 96 timmar vilket gör risken att LH-peaken missas stor när testet endast utförs en gång per tik. En säkrare metod för att påvisa LH-peaken hade varit att ta upprepade prover två gånger per dag under flera dagar.

5.3 LH-peak analyserat med Witness LH

5.3.1 Metod

De 38 i studien ingående serumproverna var avidentifierade och hade okänd progesteronkoncentration vid analysen av LH. I resultatet har därför ingen hänsyn tagits till tikarnas ålder, ras eller vikt. Även det totala antalet ingående individer i studien är okänt eftersom flera av proverna skulle kunna komma från samma individ.

Witness LH

Till en början var tanken att analysera 30 serumprover med ett Witness LH test vardera. Vid det första testtillfället analyserades de första 22 proverna och eftersom ett av testen visade ett ogiltigt resultat och behövde upprepas togs beslutet att utföra dubbla tester för samtliga 22 prover. Efter okulär bedömning och jämförelse av vardera provets två testresultat bedömdes samtliga dubbletter visa likvärdiga resultat. På grund av ekonomiska begränsningar och ett begränsat antal Witness LH test bedömdes det därför mer fördelaktigt för slutresultatet att i stället analysera ett större antal prover. Detta trots att fortsatta dubbla tester hade kunnat minska risken för felaktiga resultat. Vid testtillfälle två och tre utfördes alltså enkla tester för resterande 16 prover. Tester från två olika batcher användes men ingen kontroll med analys av serum med förväntat positivt resultat gjordes för den ena batchen. Positiva kontroller lades i stället till i arbetsplanen efter den första testomgången när det mot förväntan visade sig att inget av testen var positivt. Tanken med positiva kontroller var dels att minska sannolikheten att samtliga test i batchen var defekta, dels att få positiva resultat att jämföra testresultaten från tikar i ett okänt stadiet av reproduktionscykeln med.

Analys av data

Den använda metoden för analysen av resultaten möjliggör en objektiv jämförelse mellan vardera test- och kontrollinje då skillnaden uttrycks i procentenheter. Eftersom resultaten från flera olika test inte jämförs direkt med varandra påverkas inte metoden av eventuella skillnader på ljuset i rummet vid fotograferingen. Alla bilder är tagna med samma kamera och har samma svartvita filter. Samtliga bilder är tagna så att skuggor undviks i resultatrutan och därmed inte påverkar resultaten. Att bilderna gjorts svartvita medför att endast ljusheten (L) i bilderna kan jämföras, utan att påverkas av linjernas färgtemperatur eller resultatrutans färg. Urklippen över test- respektive kontrollinjen medför att endast de kulörer som är relevanta för resultatet extraheras och att den mörkaste färgen i vardera linjen kan bestämmas. Resultaten blir konsekventa och jämförbara då det alltid är de mörkaste kulörerna som jämförs i urklippen. Urklippen gjordes manuellt och kan därmed skilja sig något i antal pixlar, en automatiserad metod hade kunnat ge

ännu mer konsekventa resultat. I flera av linjerna var färgintensiteten varierande, till exempel högre intensitet i utkanten av linjerna. Detta skulle kunna påverka resultatet. En ännu säkrare metod skulle därför kunna vara att ta fram ett genomsnitt av ljusheten över hela linjen och därefter jämföra genomsnitten med varandra.

5.3.2 Resultat

Inget av testerna uppvisade ett positivt resultat. Trots att ingen av testlinjerna hade samma eller högre intensitet än kontrollinjen uppvisade testlinjerna däremot intensitet av stor variation. I stället för att endast basera förekomsten av LH-peak på positiva Witness LH antogs tester med testlinjer av högre intensitet komma från tikar närmre LH-peaken än tester med testlinjer av lägre intensitet. Med denna metod visar resultaten att störst tecken på LH-peak förekommer tidigare än vi tror, nämligen vid en progesteronkoncentration runt 4–5,12 nmol/L. Detta eftersom differensen hos värdena inom det intervallet är genomgående relativt liten samtidigt som variationen mellan provernas differens är liten. Antalet provet som tolkningen baseras på är dock lågt och fler prover hade behövts för att dra några säkra slutsatser. Avsaknaden av prover med progesteron mellan 3–4 nmol/L gör också att en LH-peak inom detta intervall inte kan uteslutas.

Att inte få något positivt resultat var oväntat, speciellt med tanke på att 17 av serumproverna hade progesteronkoncentrationer väl fördelade inom intervallet 6–9 nmol/L. Avsaknaden av positiva resultat inom det förväntade intervallet för LH-peaken tyder snarare på att LH-peaken eventuellt inte sker när vi tror.

Enligt instruktionerna för Witness LH är det i första hand rekommenderat att testet utförs på färskt serum samma dag som blodprovet tagits. Det framgår dock även att serum vid behov kan förvaras längre om det hålls fryst i minst -20 grader och tinas först i samband med testet. Koncentrationen LH i serum från kvinnor påverkas inte signifikant av frysning (Comstock *et al.* 2001 via Krecic *et al.* 2018). Till författarens vetskap saknas studier som jämför resultaten med Witness LH med färskt respektive fryst serum.

Hollinshead och Hanlon (2019) visar i sin studie att koncentrationen progesteron vid LH-peaken ökar 0,31 nmol/L för varje år av ökad ålder hos tiken. Detta skulle kunna vara en förklaring till de varierande koncentrationerna progesteron vid LH-peaken samt en bidragande orsak till att LH-peaken inte påvisats i den aktuella studien där tikarnas ålder var okänd. Att detta skulle vara orsaken till att samtliga resultat var negativa är dock osannolikt då det är vanligast att unga – medelålders tikar används i avel.

Tre av fyra positiva kontroller visade sig mot förmodan ge ett, enligt färganalysen, negativt resultat. Okulärt bedömdes dock tre av fyra positiva kontroller ge positiva resultat. Eftersom differensen i L för de två tester med endast okulärt positiva resultat var jämförelsevis liten har beslutet tagits att även dessa kan tolkas som positiva. Tänkbara orsaker till ett negativt resultat kan vara att förvaringen av provmaterialet påverkat innehållet av LH, att tikens kastrationsstatus var felaktig eller defekta Witness LH test. Resultatet stämmer överens med tidigare studier där kastrationsstatus inte heller kunnat fastställas med full säkerhet med Witness LH. De positiva testen som erhöles i studien har, trots att de var få, bidragit med viktig information till analysen av övriga testresultat.

5.4 Optimal parningsdag och förväntad dräktighetslängd

När och hur länge spermierna har förmåga att fertilisera oocyterna varierar beroende på om betäckningen är naturlig eller genom insemination med antingen färsk eller fryst sperma. Spermernas kapacitering tar sju timmar och tiden för oocyternas mognad efter ägglossningen samt dess överlevnad varierar. Eftersom studien inte kunnat fastställa tidpunkten för LH-peaken kan inte heller den optimala parningsdagen fastställas. Av samma anledning ger studien oss ingen hjälp i att beräkna dagen för förväntad förlossning.

5.5 Konklusion

Då inga positiva resultat erhöles med Witness LH i studien kan tidpunkt och progesteronvärden för LH-peaken inte fastställas. Följaktligen kan inte heller en optimal parningsdag fastställas. Från resultaten kan slutsatsen dras att LH-peaken inte med säkerhet kan antas förekomma inom intervallet 6–9 nmol/L progesteron hos samtliga individer. Vidare forskning är nödvändig för påvisande av LH-peaken. Då fördelaktigt med analys av ett högre antal prover alternativt att flera individer följs i flera dagar med upprepade provtagningar. Med kvantitativ analys av koncentrationen LH i serum kan frågeställningen även besvaras med större precision.

Referenser

- Arlt, S. (2018). Canine ovulation timing: A survey on methodology and an assessment on reliability of vaginal cytology. *Reproduction in Domestic Animals*, 53 (S3), 53–62. <https://doi.org/10.1111/rda.13352>
- Bergeron, L.H., Nykamp, S.G., Brisson, B.A., Madan, P. & Gartley, C.J. (2013). An evaluation of B-mode and color Doppler ultrasonography for detecting periovulatory events in the bitch. *Theriogenology*, 79 (2), 274–283. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.016>
- Bergeron, L.H., Nykamp, S.G., Brisson, B.A., Madan, P., Sears, W. & Gartley, C.J. (2014). Vaginal impedometry for detection of optimal breeding time in bitches. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245 (12), 1360–1366. <https://doi.org/10.2460/javma.245.12.1360>
- Chapwanya, A., Clegg, T., Stanley, P. & Vaughan, L. (2008). Comparison of the Immulite and RIA assay methods for measuring peripheral blood progesterone levels in Greyhound bitches. *Theriogenology*, 70 (5), 795–799. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.047>
- Chastant-Maillard, S., Lesegno, C.V. de, Chebrout, M., Thoumire, S., Meylheuc, T., Fontbonne, A., Chodkiewicz, M., Saint-Dizier, M. & Reynaud, K. (2011). The canine oocyte: uncommon features of in vivo and in vitro maturation. *Reproduction, Fertility and Development*, 23 (3), 391–402. <https://doi.org/10.1071/RD10064>
- Comstock, G.W., Burke, A.E., Norkus, E.P., Gordon, G.B., Hoffman, S.C. & Helzlsouer, K.J. (2001). Effects of repeated freeze-thaw cycles on concentrations of cholesterol, micronutrients, and hormones in human plasma and serum. *Clinical Chemistry*, 47 (1), 139–142. <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.1.139>
- Concannon, P.W. (1986). Canine pregnancy and parturition. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 16 (3), 453–475. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(86\)50053-X](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(86)50053-X)
- Concannon, P.W. (2009). Endocrinologic control of normal canine ovarian function. *Reproduction in Domestic Animals*, 44 (s2), 3–15. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01414.x>
- Concannon, P.W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124 (3), 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028>
- Concannon, P.W., Hansel, W. & Visek, W.J. (1975). The ovarian cycle of the bitch: Plasma estrogen, LH and progesterone. *Biology of Reproduction*, 13 (1), 112–121. <https://doi.org/10.1095/biolreprod13.1.112>
- Concannon, P., Hansel, W. & Mcentee, K. (1977). Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Biology of Reproduction*, 17 (4), 604–613. <https://doi.org/10.1095/biolreprod17.4.604>

- Concannon, P., Whaley, S., Lein, D. & Wissler, R. (1983). Canine gestation length: Variation related to time of mating and fertile life of sperm. *American Journal of Veterinary Research*, 44 (10), 1819-1821.
<https://doi.org/10.2460/ajvr.1983.44.10.1819>
- Concannon, P.W., Castracane, V.D., Temple, M. & Montanez, A. (2009). Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. *Animal Reproduction*, 6 (1), 172–193. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a606ef7783717068b4766>
- Conley, A.J., Gonzales, K.L., Erb, H.N. & Christensen, B.W. (2023). Progesterone analysis in canine breeding management. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 53 (5), 931–949.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2023.05.007>
- Durrant, B.S., Pratt, N.C., Russ, K.D. & Bolamba, D. (1998). Isolation and characterization of canine advanced preantral and early antral follicles. *Theriogenology*, 49 (5), 917–932. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00041-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00041-7)
- England, G. & Concannon, P.W. (2002). Determination of the optimal breeding time in the bitch: basic considerations | IVIS. I: *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. International Veterinary Information Service.
<https://www.ivis.org/library/recent-advances-small-animal-reproduction/determination-of-optimal-breeding-time-bitch> [2025-10-28]
- Feldman, E.C. & Nelson, R.W. (2004). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Elsevier Health Sciences.
- Fontbonne, A. (2006). Infertility in the bitch. *Proceedings from the 31st World Small Animal Veterinary Association World Congress* October 11, 2006, Prague.
<https://www.vin.com/doc/?id=6695348>
- Fontbonne, A. (2008). *In vivo ovulation, oocyte maturation and fertilisation in the bitch*. (Diss.). AgroParisTech. <https://pastel.hal.science/pastel-00004418> [2025-10-31]
- Forsberg, C.L. & Reynaud, K. (2012). Biology of reproduction and modern reproductive technology in the dog. I: *The Genetics of the Dog*. 295–320.
<https://doi.org/10.1079/9781845939403.0295>
- Fraser, N., Wilborn, R.R., Schultz, W., Randall, J., Pew, C. & Greer, M. (2015). Comparative progesterone assay. *Clinical Theriogenology*, 7 (3), 207–210
- de Gier, J., Kooistra, H.S., Djajadiningrat-Laanen, S.C., Dieleman, S.J. & Okkens, A.C. (2006). Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17 β , progesterone, prolactin, and α -melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology*, 65 (7), 1346–1359.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.010>
- de Gier, J., Beijerink, N.J., Kooistra, H.S. & Okkens, A.C. (2008). Physiology of the canine anoestrus and methods for manipulation of its length. *Reproduction in Domestic Animals*, (43), Suppl. 2, 157–164. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01156.x>

- Groppetti, D., Aralla, M., Bronzo, V., Bosi, G., Pecile, A. & Arrighi, S. (2015). Periovulatory time in the bitch: What's new to know?: Comparison between ovarian histology and clinical features. *Animal Reproduction Science*, 152, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.11.008>
- Haaften, B. van, Bevers, M.M., Brom, W.E. van den, Okkens, A.C., Sluijs, F.J. van, Willemse, A.H. & Dieleman, S.J. (1994). Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle bitch. *Reproduction*, 101 (1), 221–225. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1010221>
- Hase, M., Hori, T., Kawakami, E. & Tsutsui, T. (2000). Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 62 (3), 243–248. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.243>
- Hollinshead, F. & Hanlon, D. (2019). Normal progesterone profiles during estrus in the bitch: A prospective analysis of 1420 estrous cycles. *Theriogenology*, 125, 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.018>
- Hollinshead, F.K. & Hanlon, D.W. (2017). Factors affecting the reproductive performance of bitches: A prospective cohort study involving 1203 inseminations with fresh and frozen semen. *Theriogenology*, 101, 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.06.021>
- José López, F., Finn, P.D., Lawson, M.A. & Negro-Vilar, A. (2000). Regulation of the hypothalamic–pituitary–gonadal axis: Role of gonadal steroids and implications for the menopause. I: *Menopause*. Academic Press. 33–60. <https://doi.org/10.1016/B978-012453790-3/50004-4>
- Krecic, M.R., DiGangi, B.A. & Griffin, B. (2018). Accuracy of a point-of-care luteinizing hormone test for help in distinguishing between sexually intact and ovariectomized or castrated domestic cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20 (10), 955–961. <https://doi.org/10.1177/1098612X17738856>
- Kustritz, M.V.R. (2012). Managing the reproductive cycle in the bitch. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42 (3), 423–437. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.01.012>
- Kutzler, M.A., Mohammed, H.O., Lamb, S.V. & Meyers-Wallen, V.N. (2003). Accuracy of canine parturition date prediction from the initial rise in preovulatory progesterone concentration. *Theriogenology*, 60 (6), 1187–1196. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00109-2)
- Mahi, C.A. & Yanagimachi, R. (1976). Maturation and sperm penetration of canine ovarian oocytes in vitro. *Journal of Experimental Zoology*, 196 (2), 189–195. <https://doi.org/10.1002/jez.1401960206>
- Nöthling, J.O. & De Cramer, K.G.M. (2018). Comparing the values of progesterone in the blood of bitches as measured with a chemiluminescence immunoassay and a radioimmunoassay. *Reproduction in Domestic Animals*, 53 (5), 1136–1141. <https://doi.org/10.1111/rda.13216>

- Olson, P.N., Bowen, R.A., Behrendt, M.D., Olson, J.D. & Nett, T.M. (1982). Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus. *Biology of Reproduction*, 27 (5), 1196–1206.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod27.5.1196>
- Olson, P.N., Mulnix, J.A. & Nett, T.M. (1992). Concentrations of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the serum of sexually intact and neutered dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 53 (5), 762–766.
<https://doi.org/10.2460/ajvr.1992.53.05.762>
- Phyllis, A., Holst, M.S. & Phemister, R.D. (1974). Onset of diestrus in the Beagle bitch: Definition and significance. *American Journal of Veterinary Research*. 35 (3).
<https://avmajournals.avma.org/view/journals/ajvr/35/3/ajvr.1974.35.03.401.xml> [2025-10-02]
- Reckers, F., Klopffleisch, R., Belik, V. & Arlt, S. (2022). Canine vaginal cytology: A revised definition of exfoliated vaginal cells. *Frontiers in Veterinary Science*, 9.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.834031>
- Reynaud, K., Fontbonne, A., Marseloo, N., Thoumire, S., Chebrou, M., Lesegno, C.V. de & Chastant-Maillard, S. (2005). In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. *Reproduction*, 130 (2), 193–201.
<https://doi.org/10.1530/rep.1.00500>
- Rohlertz, M., Ström Holst, B. & Axnér, E. (2012). Comparison of the GnRH-stimulation test and a semiquantitative quick test for LH to diagnose presence of ovaries in the female domestic cat. *Theriogenology*, 78 (9), 1901–1906.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.06.027>
- Santos, N.R., Maenhoudt, C., Borges, P., Mir, F., Decrouy, D. & Fontbonne, A. (2012). Evaluation of a commercially available luteinizing hormone test to determine the breeding time in the bitch. *Proceedings from ISVFR & EVSSAR Symposium July 29, 2012, Whistler, BC, Canada*. <https://www.ivis.org/library/iscfr/iscfr-evssar-symposium-canada-2012/evaluation-of-a-commercially-available-luteinizing-hormone-test-to-determine-breeding-time-bitch> [2025-11-04]
- Siemens Healthineers (2025a). *LH - IMMULITE 2000 Systems - Rev 26* [Manual].
<https://doclib.siemens-healthineers.com/documents?search=LH%20-%20IMMULITE%202000%20Systems%20-%20Rev%2026&countries=205&sortingby=-modified-at&languages=2,15> [2026-01-03]
- Siemens Healthineers (2025b). *Progesterone - IMMULITE 2000 Systems - Rev 26* [Manual]. <https://doclib.siemens-healthineers.com/document/1124765> [2025-11-12]
- Sjaastad, O.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd ed. Scandinavian Veterinary Press.
- Steckler, D., Nöthling, J.O. & Harper, C. (2013). Prediction of the optimal time for insemination using frozen-thawed semen in a multi-sire insemination trial in

- bitches. *Animal Reproduction Science*, 142 (3), 191–197.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.09.013>
- Tal, S., Mazaki-Tovi, M., Druker, S., Novak, S., Raz, T. & Aroch, I. (2020). Evaluation of two chemiluminescent assays compared with radioimmunoassay for serum progesterone measurement in bitches. *Theriogenology*, 147, 116–123.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.026>
- Tani, H., Inaba, T., Nonami, M., Matsuyama, S., Takamori, Y., Torii, R., Tamada, H., Kawate, N. & Sawada, T. (1999). Increased lh pulse frequency and estrogen secretion associated with termination of anestrus followed by enhancement of uterine estrogen receptor gene expression in the beagle bitch. *Theriogenology*, 52 (4), 593–607. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00155-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00155-7)
- Tani, H., Inaba, T., Tamada, H., Sawada, T., Mori, J. & Torii, R. (1996). Increasing gonadotropin-releasing hormone release by perfused hypothalamus from early to late anestrus in the beagle bitch. *Neuroscience Letters*, 207 (1), 1–4.
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(96\)12471-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)12471-X)
- Tsutsui, T., Kirihara, N., Hori, T. & Concannon, P.W. (2007). Plasma progesterone and prolactin concentrations in overtly pseudopregnant bitches: A clinical study. *Theriogenology*, 67 (5), 1032–1038.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.05.022>
- Walusimbi, S.S. & Pate, J.L. (2013). PHYSIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY SYMPOSIUM: Role of immune cells in the corpus luteum1. *Journal of Animal Science*, 91 (4), 1650–1659. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6179>
- Wildt, D.E., Chakraborty, P.K., Panko, W.B. & Seager, S.W.J. (1978). Relationship of reproductive behavior, serum luteinizing hormone and time of ovulation in the bitch. *Biology of Reproduction*, 18 (4), 561–570.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod18.4.561>
- WHO (2003). *Manual of basic technique of health laboratory*. 2nd ed. Geneva, World Health Organization. <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/15cf893e-17e4-448d-a680-5e6741f65fd6/content>
- Zoetis (2019). *WITNESS LH Direction Insert* [Manual].
https://www.zoetisus.com/content/_assets/docs/Diagnostics/package-inserts/WITNESS-LH-Direction-Insert-LBL-00412.pdf [2025-10-07]

Populärvetenskaplig sammanfattning

Luteiniserande hormon (LH) frisätts från hypofysen i hjärnan. Frisättningen och koncentrationen av könshormonerna i blodet följer ett cykliskt mönster och regleras av en del av hjärnan som kallas hypotalamus. Den största frisättningen och högsta koncentrationen av LH ses under den så kallade LH-peaken. Tidpunkten för LH-peaken är användbar i avelsarbetet eftersom den sker 48–60 timmar innan ägglossning och därmed kan användas som riktlinje för när parning har störst chans att leda till en lyckad befruktning och dräktighet.

Analys av LH i blodprov är i dagsläget dyrare och mindre praktiskt än analys av hormonet progesteron. Sambandet mellan koncentrationerna av hormonerna har gjort att det är praxis att analysera progesteron för att påvisa LH-peaken och fastställa den optimala dagen för parning. Progesteron frisätts från äggstockarna och är delaktig i nedregleringen av frisättning av LH. I tidigare forskning har koncentrationen LH och progesteron analyserats hos tikar och progesteronkoncentrationen vid LH-peaken fastställts. På Universitetsdjursjukhuset (UDS) anses progesteron i blodserum av koncentrationen 6–9 nmol/L motsvara LH-peaken. Detta intervall baseras på resultat i äldre forskning framtagna med andra analysmetoder än den som används på UDS idag.

Syftet med den här studien var att fastställa om LH-peaken sker när vi tror. För detta har blodserum samlats från 38 blodprovstagningar på tikar som vid besök på UDS reproduktionsavdelning fått progesteron analyserat. Blodproverna har tagits av personal på UDS och hanterats enligt djursjukhusets normala rutiner. Analys av progesteron har utförts av personal på djursjukhusets laboratorium och sedan har överblivet serum sparats i frys. Serumprover med en koncentration av progesteron inom intervallet 2–12 nmol/L har avidentifierats och sparats för analys av LH.

Witness LH är ett snabbtest för påvisande av LH-peaken. Testet består av en del avsedd för tillsättning av fyra droppar serum. I ett giltigt tests resultatruta dyker en kontrollinje och en testlinje upp som kan jämföras med varandra efter 20 minuter. Om testlinjen är lika stark eller starkare i intensitet än kontrollinjen är testet positivt för LH-peak. Om kontrollinjen är starkare än testlinjen är testet negativt.

Utöver en första bedömning av resultaten, genom att titta på och jämföra testlinjen med kontrollinjen, fotograferades alla resultat och linjerna jämfördes genom en färganalys. Fotografierna gjordes först svartvita med hjälp av ett filter i datorns fotohanteringsprogram och därefter gjordes ett utklipp över de båda linjerna med hjälp av datorns skärmlippverktyg. Bilderna klistrades in i ett program som tog

ut alla färgnyanser i bilderna och sorterade dessa från mörkast till ljusast. Färgkoden för den mörkaste nyansen i testlinjen jämfördes med färgkoden för den mörkaste nyansen i kontrollinjen. Eftersom bilderna gjorts svartvita var det bara ljusstyrkan i färgnyanserna som skiljde sig. Ljusstyrkan anges i procentenheter och skillnaden i antal procentenheter kunde sedan användas för att jämföra resultaten från alla test med varandra.

Efter genomförd bedömning av resultaten kontrollerades provernas koncentration av progesteron. Som positiv kontroll användes serum från kastrerade tikar vilka i regel har konstant höga koncentrationer LH eftersom nedregleringen av frisättningen inte fungerar som vanligt efter att äggstockarna tagits bort.

För de 38 insamlade proverna var alla resultat för testet Witness LH negativa. Detta betyder att LH-peaken inte kunde identifieras. För en del prover var testlinjen knappt synlig medan den för andra prover var nästan lika stark som kontrollinjen. Därför gjordes en sammanställning i form av ett diagram där varje punkt i diagrammet motsvarar ett prov. Punktens placering baseras på provets koncentration progesteron och skillnaden ljusstyrka i antal procentenheter.

Utifrån diagrammet kan slutsatsen dras att intervallet för LH-peaken som används på UDS idag inte med säkerhet kan antas motsvara LH-peaken hos samtliga tikar. Resultaten tyder även på att LH-peaken möjligtvis sker vid lägre progesteronkoncentration än vi tror.

Sammanfattningsvis kan inga säkra slutsatser dras utifrån studiens resultat. Vidare forskning med ett större antal prover behövs för att fastställa tidpunkten för LH-peaken samt optimal parningsdag hos tik.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

☒ JA, jag har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

☐ NEJ, jag ger inte min tillåtelse till att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.