



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen

Institutt for produksjonsdyrmedisin

Seksjon for ambulatorisk klinikk og besetningsmedisin

Fordypningsoppgave 2023, 15stp

Fordypningsretning Produksjonsdyrmedisin og  
Mattrygghet

## **Inseminasjon hos norske kviger – En observasjonsstudie på deponeringssted og ikke- omløpsprosent**

Artificial insemination in Norwegian heifers – An  
observational study on deposition-site and non-return  
rate

Kolås, Toralf Espe, Lillemoe, Anders Brøten og  
Lundby Anita  
Kull 2018

Veiledere: Krogenæs, Anette K. og Nødtvedt, Ane C.  
W.

# Innhold

Forord .....	6
Sammendrag .....	7
Definisjoner og forkortelser .....	8
Innledning.....	10
Inseminering og insemineringsteknikk .....	11
Inseminasjonen.....	12
Optimalt tidspunkt for inseminasjon .....	13
Dobbeltinseminasjon.....	14
Midtsyklus-inseminasjon .....	15
Inseminasjon av drektige kyr .....	16
Sædtyper.....	17
Normal anatomi.....	18
Vulva .....	18
Vagina .....	19
Cervix uteri.....	19
Uterus .....	20
Ovidukten .....	21
Ovariet.....	21
Follikler .....	22
Corpus luteum .....	22
Kjønnsmodning hos kviger .....	23
Fysiologi.....	24
Hypothalamus–hypofyse–gonade-aksen .....	24
Brunstsyklus.....	27

Brunstdeteksjon og brunsttegn .....	28
Forbrunsten.....	28
Brunsten .....	29
Etterbrunsten .....	30
Forhold hos kua som påvirker fruktbarheten .....	31
Energibalanse .....	31
Brunst .....	32
Ovulasjon .....	33
Progesteronproduksjon.....	33
Endometriet .....	34
Fostergjenkjennelse .....	34
Sykdom post-partum .....	35
Ketose.....	35
Melkefeber .....	35
Uterin sykdom.....	36
Tilbakeholdt etterbyrd .....	37
Eggstokkcyster .....	37
Annen sykdom som påvirker fruktbarhet.....	38
Mastitt.....	38
Miljøfaktorer som påvirker fruktbarhet.....	39
Stress .....	39
Lys.....	39
Utviklingsfeil hos kviger som påvirker fruktbarhet .....	39
Freemartin .....	39
Eggstokkhypoplasi .....	40

Utviklingsfeil i bær og b�rhals .....	41
Fruktbarhet som styringsverktøy .....	41
FS-tall .....	41
Ikke-omløpsprosent vs. drektighetsprosent .....	42
Formål .....	44
Materiale og metode .....	45
Studiedesign .....	45
Datainnsamling .....	46
Statistikk .....	46
Kausaldiagram .....	48
Resultater .....	49
Total forekomst av koder .....	51
Ikke-omløpsstatistikk .....	52
Fordeling av antall inseminasjoner per måned og andelen med kode .....	53
Analyse .....	54
Diskusjon .....	56
Ferdig innsamlede data .....	57
Stort datagrunnlag .....	57
Feilkilder .....	58
Bias .....	60
Kausalitet .....	62
Validitet .....	63
Sammenligning med annen litteratur .....	63
Konklusjon .....	65
Takk til bidragsyttere .....	66

Summary .....	67
Referanser.....	68

## **Forord**

Internasjonalt er det gjort flere studier på sammenhengen mellom deponeringssted og fruktbarhetsresultat ved kunstig sædooverføring hos storfe. I Norge har det så langt ikke vært gjort lignende studier med store nok studiepopulasjoner til å kunne si noe sikkert om forholdene som forekommer blant den norske storfepopulasjonen.

I 2019 startet Geno opp et prosjekt for å kartlegge deponeringsvansker grunnet trang eller vinklet cervix hos norske kviger. Inseminører kunne da melde inn kode når trang/vinklet cervix gjorde at sæddosen ble deponert cervikalt i stedet for intrauterint. Prosjektet gikk over tre år og har bidratt til innsamling av verdifull data på tilnærmet alt av insemineringer gjort på norske kviger i løpet av perioden.

Vi har valgt denne oppgaven fordi inseminering er en viktig del av veterinærpraksis, og ny kunnskap om effekten av deponeringssted på fruktbarhet kan bidra til å forbedre dette arbeidet. Videre vil kartlegging av forekomsten av vinklet eller trang cervix hos norske kviger kunne føre til endringer i avlsarbeidet for å bedre fruktbarheten i fremtiden.

## Sammendrag

*Tittel:* Inseminasjon hos norske kviger – En observasjonsstudie på deponeringssted og ikke-omløpsprosent

*Forfattere:* Toralf Espe Kolås, Anders Brøten Lillemoe og Anita Lundby

*Veileder:* Anette K. Krogenæs og Ane C. Nødtvedt, Institutt for produksjonsdyrmedisin (PRODMED)

I denne oppgaven ønsket vi å gjøre en observasjonsstudie for å undersøke om deponeringssted ved kunstig sædooverføring har effekt på ikke-omløpsprosent hos norske kviger. Gjennom et prosjekt av Geno, har inseminører rapportert inn koder når de har måttet deponert i cervix. Kode 58 ble brukt for trang cervix, og kode 59 for bøyd/vinklet cervix. Etter å ha plukket ut data som oppfylte eksklusjons- og inklusjonskriteriene for studien, bestod datasettet av 232.863 innmeldte 1. gangsinseminasjoner gjort i perioden 01.08.2019–30.07.2022. Kji-kvadrattest ble benyttet for å teste sammenhengen mellom de to binære variablene deponeringssted og ikke-omløpsprosent.

Resultatet av den statistiske analysen viste en statistisk signifikant sammenheng mellom ikke-omløpsprosent og deponeringssted ved signifikansnivå satt til 0,05. Ikke-omløpsprosent ved 56 dager var 53,18 % for kviger inseminert med kode og 74,13 % for kviger inseminert uten kode. I denne studien ble det påvist både en statistisk og biologisk signifikant sammenheng mellom deponeringssted og ikke-omløpsprosent hos norske kviger.

## Definisjoner og forkortelser

Tabell 1: Definisjoner og forkortelser

Forkortelse, uttrykk	Definisjon
AI	Antall inseminerte dyr
AIPP	Antall insemineringer utført i gjennomsnitt pr ku/kvige
AU	Antall utsjaltninger pga. dårlig fruktbarhet
Cervix	Livmorhals, Bør
CH	Corpus haemorrhagicum
CL	Corpus luteum, det gule legemet
CLG	Corpus luteum graviditatis
Dr%	Drektighetsprosent
DHP	Dyrehelseportalen
Follikkel	Eggblære
FSH	Follikkelstimulerende hormon
Geno	Samvirkeselskap eid av norske storfebønder. Avlsselskap for NRF.
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone, gonadotropinfrigjørende hormon
HPG-aksen	Hypothalamus–hypofyse–gonade aksen
IFNT	Interferon-tau
IGF-1	Insulin-like growth factor type 1
Inseminør	Semintekniker
IO%	Ikke-omløpsprosent
IO56	Ikke-omløpsprosent ved 56 dager



KS	Kunstig sædoverføring
KFI	Tid fra kalving til første inseminering
KSI	Tid fra kalving til siste inseminering
Kvige	Storfe som ikke har fått kalv ennå
LH	Luteiniserende hormon
NEB	Negativ energibalanse
NRF	Norsk rødt fe
Ovarier	Eggstokker
Ovidukten	Tuba uterina, salpinx eller egglederen
Oocyt	Egg
PGF <sub>2</sub> $\alpha$	Prostaglandin F <sub>2</sub> $\alpha$
PGR	Prostaglandinreseptorer
PMN	Polymorfkjernede nøytrofile
P4	Progesteron
Tuba uterina	Ovidukt, salpinx, eggleder
Tyr	Norsk kjøttfeavlslag
Uterus	Livmor, bør

## **Innledning**

Tidlig avlsarbeid for NRF-rasen belaget seg på import av oksemateriale fra utlandet, hvor det frem til slutten av 30-tallet var omfattende import av SRB-okser (Svensk röd och vit boskap). I 1938–1939 stoppet importen opp grunnet utbrudd av munn- og klauvsjuka, samtidig som 2. verdenskrig litt senere gjorde importen av dyr vanskelig. Når nye avlsokser ikke lenger kunne importeres, så avlsforeningen seg nødt til å utforske andre alternativer for å klare å utnytte avlsoksene i Norge bedre. Teknikken for kunstig sædooverføring, slik vi kjenner den i dag, ble først introdusert av danske veterinærer i 1937. På begynnelsen av 40-tallet var kunstig sædooverføring allerede tatt i bruk i Sverige og Danmark, og i 1942 fikk avlsforeningen valutalisens til å importere to SRB-okser fra Sverige. Dette ble starten for kunstig sædooverføring i Norge, og de neste årene etter krigen ble 2–3 okser importert hvert år, samtidig som avlsforeningen kjøpte inn lovende norskfødte okseemner (Geno).

Overgangen til kunstig sædooverføring gav også mye ny kunnskap om viktigheten av sædens egenskaper for fruktbarhet. Metoder for vurdering av ejakulatet ved måling av volum og spermiekonsentrasjon ble utviklet (Salisbury et al., 1943). Metoder for vurdering av spermienes vitalitet og morfologisk undersøkelse ble også utviklet (Moore & Hasler, 2017). I 1960 ble ny teknologi for frysing av sæd tatt i bruk i Norge, hvor lagring av sæd på flytende nitrogen åpnet muligheten for å kunne tilby sæd over hele landet. Forsøk viste at sæd av god kvalitet i lavere doser gav like gode drektighetsresultater. Slik kunne hver avlsokse og hver sæddose utnyttes bedre ved kunstig sædooverføring.

Forhold hos kua som påvirker fruktbarhet har lenge vært studert. Internasjonalt har redusert fruktbarhet hos populære melkeraser som Holstein vært et pågående problem (Lucy, 2001). Lav vektlegging av helse- og reproduksjonsegenskaper i avlsarbeidet, sammen med en sterk

vektlegging av melkeytelse, ble lenge antatt å være årsak til den reduserte fruktbarheten som ble rapportert på slutten av 90-tallet. Særlig den antagonistiske sammenhengen mellom genetisk seleksjon for økt melkeytelse og redusert fertilitet er viet mye oppmerksomhet i avlsarbeidet. I senere tid er det identifisert følgende viktige faktorer som antas å spille en enda mer sentral rolle for fruktbarheten i melkekubesetninger: 1) negativ energibalanse og post-partum sykdom, 2) brunstdeteksjon og grad av ytre brunsttegn, 3) sædkvalitet, 4) ovulasjon og fertilisering av oocyt av høy kvalitet, 5) tidlig økning i progesteronproduksjon, 6) rask etablering av fordelaktig miljø i uterus og 7) sterk produksjon av interferon-tau (Walsh et al., 2011).

### **Inseminering og insemineringsteknikk**

Bruken av kunstig sædovertføring (KS) i Norge ble raskt tatt i bruk i et stort omfang, spesielt innen melkeproduksjonen på 1960-tallet. Dette gav grunnlaget for å begynne med et systematisk avlsarbeid på Norsk rødt fe (Refsdal et al., 2014a).

Ved bruk av KS deponeres sæddosen i uterus, i motsetning til ved naturlig paring hvor oxen deponerer ejakulatet vaginalt. Et enkelt ejakulat fra en okse inneholder 8–10 milliarder sædceller. Siden man ved KS får passert cervix med hele dosen, kan man redusere antall sædceller betydelig. Det er adekvat med 12–15 millioner sædceller per dose ved bruk av intrauterin deponering. Dette gjør at man kan ut av et enkelt sæduttak få flere hundre til over ett tusen sæddoser. Dermed kan en god avlsokse over en kort tidsperiode få produsert mange tusen sæddoser. Kombinasjonen med frysing av sæd og at topp-oksene produserer et så høyt antall doser, gjør at den beste genetikken blir tilgjengelig for alle produsentene over hele landet (Refsdal et al., 2014a).

## **Inseminasjonen**

Gangen i en inseminasjon består av at bonden oppdager ei brunstig ku han ønsker å få inseminert. Bonden vil dermed ringe til inseminøren som ankommer fjøset med fryste sædstrå i en beholder med flytende nitrogen. Så tas sædstrået ifra nitrogenbeholderen, til et vannbad som holder 37 °C. Videre så lader inseminøren inseminatoren med den ønskede sæddosen. Kua står gjerne fiksert i fanghekk. Inseminøren fører inseminatoren inn vaginalt, går inn rektalt med den andre hånda for å fiksere cervix, fører inseminatoren bort til portio og inn i cervix. Ved bruk av hånda som er inne rektalt, manipuleres cervix slik at det blir mulig å føre inseminatoren forbi brusfoldene i cervix. Når inseminatoren er igjennom cervix og inne i uterus, deponeres dosen og inseminasjonen er over. Etter inseminasjonen må den rapporteres i Dyrehelseportalen (DHP). Her er det viktig å få rapportert inn riktig, ku-, okse- og batchnummer.

Utfordringen med beskrevet teknikk er som oftest å komme igjennom cervix med inseminatoren. Vanligvis skal cervix være noe mer åpen, slimete og glatt ved en god brunst. Det er en god del individuelle forskjeller fra ku til ku på hvor lett dette er, selv ved en god brunst. Hvis inseminatoren blir stående og stange for lenge i bruskringene i cervix, vil det bli blødning og enden på inseminatoren vil bli dekket med blod. Dette vil redusere vitaliteten til sædcellene etter deponering. Derfor er det vanlig praksis å deponere sæddosen inne i cervix, dersom det er for vanskelig å komme igjennom.

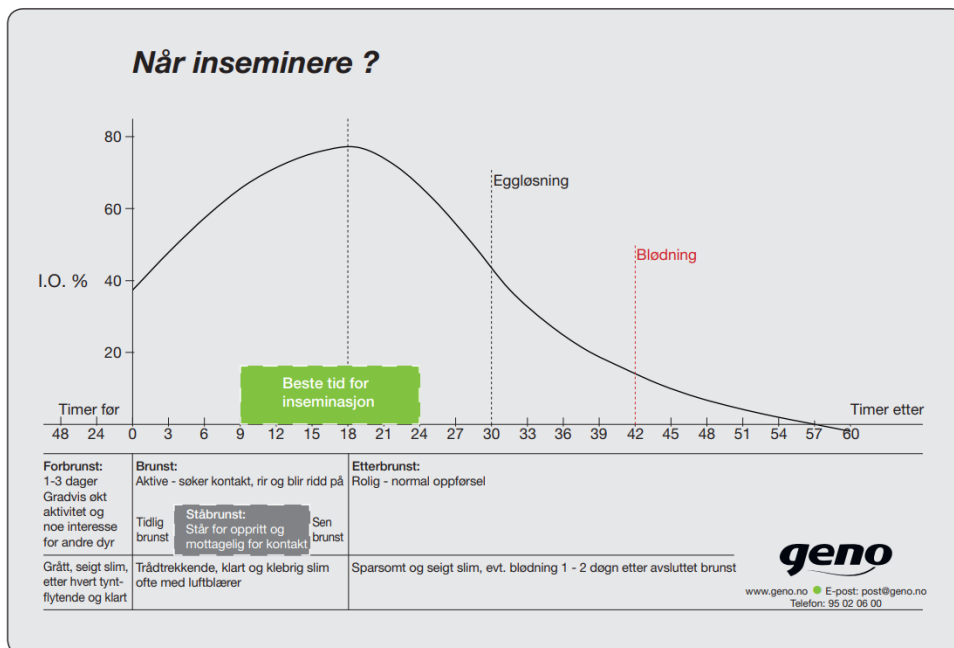
Det er utviklet flere forskjellige inseminasjonsteknikker på storfe: inseminasjon i borkroppen (corpus uteri), bilateral inseminasjon i børhornene, dyp unilateral deponering og intrafollikulær inseminasjon. Under norske forhold er den beskrevne rectovaginale teknikken

enerådende. Fordelen er at den gir gode resultater med små sæddoser, lav risiko for å skade uterusveggen og at den ikke krever palpasjon av ovarier før inseminasjon (Hopper, 2015).

### Optimalt tidspunkt for inseminasjon

For å oppnå høyest mulig drektighetsprosent er det best å inseminere siste halvdel av brunsten og de første 6 timene etter opphør av brunsten (Refsdal et al., 2014a).

Sædcellene er levedyktige i ca. 24 timer etter deponering intrauterint. De trenger 3–6 timer fra deponering til de har fått modnet og blitt befruktningsdyktige. Eggløsningen kommer ca. 12 timer etter brunstens slutt. Det nylig ovulerte egget har et kort vindu på 4–6 timer hvor det er befruktningsdyktig. Det betyr at det må være befruktningsdyktige sædceller på plass i infundibulum ved ovulasjon eller kort tid etter (Refsdal et al., 2014a).



Figur 1: Kurve som viser sannsynlig IO% ved forskjellige inseminasjonstidspunkt (Geno, 2020).

Det å vite eksakt når brunsten begynte er en utfordring i praksis. Det er store individuelle forskjeller på brunstadferd fra ku til ku og begrenset hvor mange timer i døgnet det er noen i

fjøset til å observere brunsten. Hjelpemidler som aktivitetsmåler og videoovervåking kan gjøre dette enklere (Refsdal et al., 2014a).

I praksis vil man inseminere sent samme dag hvis brunsten oppdages på morgenen. Hvis brunsten oppdages senere på dagen eller kvelden, venter man til neste morgen å inseminere. Om man hadde inseminert helt ved starten av brunsten, ville de fleste spermene ikke lenger være befruktningsdyktige når ovulasjonen skjer etter ca. 30 timer. Rundt 18 timer etter starten av brunsten regnes som optimalt tidspunkt for inseminering, med tanke på å få høyest mulig ikke-omløpsprosent.

De fleste veterinærkontorer og inseminører har vanligvis innringingstid frem til kl 10.00. Da blir praksisen slik at de dyra som er oppdaget brunst på dagtid og kvelden før, blir meldt inn og inseminert den dagen. Dyr hvor brunsten oppdages rett rundt innringingstiden og antas er helt i starten av brunsten, må evalueres om de skal insemineres seint samme dag eller tidlig neste dag. Det må nødvendigvis tas en del praktiske hensyn med tanke på kjøreruter, helg, helligdager og om det er flere dyr som skal insemineres i samme besetning. Slike hensyn kan forskyve insemineringstidspunkt bort fra det optimale 18 timer etter starten av brunsten (Refsdal et al., 2014a).

### **Dobbeltinseminasjon**

Utfordringer med å finne rett inseminasjonstidspunkt, resulterer i at en del kyr blir inseminert to eller flere ganger på samme brunst. Hvis kua viser tydelig brunsttegn en eller to dager etter inseminering, er det riktig å inseminere på nytt, siden spermene fra den første insemineringen mest sannsynlig ikke lenger er levende ved ovulasjonen. Det blir flere dobbeltinseminasjoner i vinterhalvåret hvor brunsttegnene er svakere. Samme tendens sees på kyr som insemineres

tidlig etter kalving. Individuelle variasjoner av varighet, tydelighet på brunsttegnene og sykluslengde hos enkeltindividene fører til at bønder kan ta feil av optimalt inseminasjonstidspunkt (Refsdal et al., 2014a).

Dobbeltinseminasjon kan også bli brukt som en bevisst strategi i besetninger med konsentrert kalving eller som prøver å forflytte kalvingstidspunkt til tidligere på året. Brunsttegnene kan være noe svakere ved de tidlige brunstene etter kalving og bonden ønsker å redusere risikoen for omløp ved å dobbeltinseminere. Ved bruntsynkronisering med bruk av hormoner, prostaglandin-analoger, er vanlig praksis å dobbeltinseminere på dag 3 og 4 etter siste behandling. Effekten av dobbeltinseminasjon varierer mellom forskjellige aldersgrupper og besetninger, men beregninger viser en økning i ikke-omløpsprosent på 2–3 % på landsbasis i gjennomsnitt (Refsdal et al., 2014a).

### **Midtsyklus-inseminasjon**

Storfe har som regel to eller tre follikkelbølger per brunstsyklus, hvorav det bare er én av follikkelbølgene som får gonadotropin hormon-releasing hormon (GnRH) surge før en ny brunst. Med den stimulerende effekten til follikkelstimulerende hormon (FSH) og luteiniserende hormon (LH), modnes det frem en eller to dominante follikler som ovulerer. I lutealfasen med høyt progesteronnivå vil det ikke kunne produseres nok GnRH til at dominante follikler dannes og ovulerer. Hos en del kyr vil disse midtsyklus-follikkelbølgene fremdeles produsere nok østrogen, slik at kua vil vise ytre brunsttegn. Selv om det ikke blir noe eggløsning kan kua både slime og vise brunstadfærd (Hopper, 2015).

Dersom bonden tolker tegnene fra midtsyklus-follikkelbølgene som en brunst og kua blir inseminert, blir det naturligvis ingen drektighet. Inseminasjon på kyr utenfor brunst har

betydelig større fare for å gi metritt, siden børen er mindre motstandsdyktig mot infeksjon enn den er under en ekte brunst. En metritt etter en midtsyklus-inseminering kan redusere sannsynligheten for at kua blir drektig på neste brunst (Refsdal et al., 2014a).

Dårlig brunstkontroll og management er som oftest årsaken til inseminasjon midtsyklus.

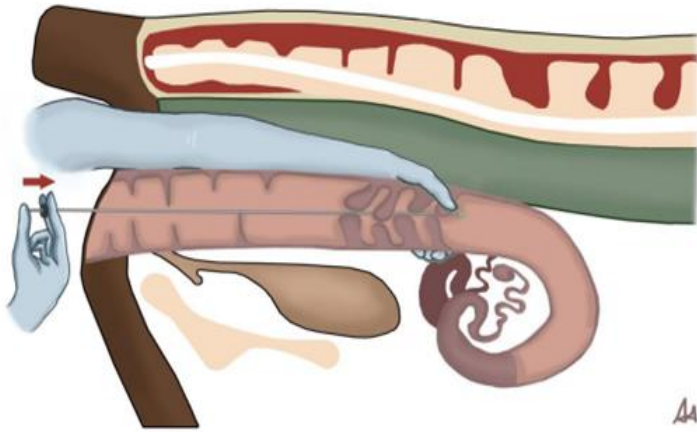
Dersom kyr viser generelt dårlig brunsttegn, kan det være vanskelig å skille mellom ekte brunst og midtsyklus-follikkelbølger. Derfor er det viktig med gode rutiner for brunstkontroll og notering. Det finnes flere indikatorer og hjelpemidler for brunstdeteksjon, slik som brunstkalender, notering av sliming og blødning, aktivitetsmåler og ridning. Bruker man mange indikatorer til å bedømme brunst, blir det enklere å skille ekte brunster fra midtsyklus-brunster. Undersøkelser viser at 4–5% av inseminasjonene i Norge skjer utenom brunst (Refsdal et al., 2014a).

### **Inseminasjon av drektige kyr**

Drektige dyr kan også ha follikkelbølger med nok østrogenfrigjøring slik at kua kan vise svake brunsttegn. Hvis dette skjer 3 eller 6 uker siden sist inseminering, kan bonden tolke dette som at kua har løpt om og tilkalle inseminør.

Konsekvensen av å inseminere drektige dyr er ofte abort. Derfor burde det gis beskjed til inseminør om at kua har blitt inseminert tidligere, og at det er usikkert om hun er drektig. Da kan dosen deponeres i cervix. Dette vil redusere risiko for abort hvis kua er drektig og gi en relativ god sjanse for drektighet dersom det er en vanlig brunst (Refsdal et al., 2014a).





Figur 2: Illustrerer deponeringssted i uterus. Kilde Anette Krogenæs.

## Sædtyper

Det produseres primært tre forskjellige typer sæd av Geno: vanlig/konvensjonell, kjønnsseparert og SpermVital (Geno, 2020d).

Den konvensjonelle sæden produseres ved sædtapping, deretter målt og veid, så fortynnet og kjølt ned. Deretter blir innholdet tappet i sædstrå, id-merket og til slutt fryst ned til  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  og lagret i flytende nitrogen. Ved hvert sæduttak blir det tatt kontrollprøver som blir analysert for sædkvalitet. Denne kontrollen inneholder mikrobiologisk undersøkelse, vitalitet og bevegelighet på spermene, samt undersøkelse av spermier med deformiteter. Hvis ikke kvalitetskravene blir oppfylt, avvises det aktuelle sæduttaket. Ved gjentakende sæduttak med dårlig kvalitet kan oksen bli ekskludert fra avlsprogrammet (Geno, 2020d).

Kjønnsseparert sæd blir produsert på samme vis som vanlig sæd, bare med et ekstra steg med kjønnssepareringen. Der velges det ene kjønn basert på kjønnskromosomet og majoriteten av spermene med det aktuelle kjønn elimineres. Denne kjønnssepareringen reduserer spermiekonsentrasjonen betydelig og blir en ekstra påkjenning for de gjenværende spermene.

Derfor produseres det bare kjønnsseparert sæd fra okser med svært god sædkvalitet. Det anbefales kun å bruke kjønnsseparert sæd på dyr med god fruktbarhet, høy avlsverdi, god brunst og helst kviger. Det anbefales ikke å bruke på svært høyt ytende kyr tett etter kalving, dyr med dårlig brunst eller dyr som er hormonelt brunstsynkronisert (Geno, 2023c).

SpermVital er sæddoser produsert med en ny konserveringsmetode utviklet av Geno. Det er en prosesseringsteknologi for sæd der spermene er immobilisert i en alginat-gel før kryokonservering. Med denne metoden blir spermene bedre beskyttet mot skader ved nedfrysing. Hovedeffekten av å immobilisere spermene i alginat-gelen er at de frigjøres mer gradvis fra gelen inne i uterus. Dermed vil det være til stede levedyktige spermier i uterus i lengre tid enn med deponering med konvensjonell sæd. Dette vil være fordelaktig hvis man er usikker på hvor kua er i brunsten eller hvis man ønsker å inseminere flere dyr samtidig. Bruk av SpermVital kan være et alternativ til dobbeltinsemineringer (Geno, 2020f).

## **Normal anatomi**

Hunnkjønnsorganet hos storfe består av vulva lengst kaudalt, vagina, og videre kranialt finner vi cervix og deretter uterus som deler seg ut i to horn med hver sin eggleder og ovarium (König & Liebich, 2014). Ved beskrivelse av hunnkjønnets anatomi tar vi utgangspunkt i gangen i insemineringen og spermienes transport fra uterus.

### **Vulva**

Vulva er den eksterne delen av det hunnlige kjønnsorganet. Her er det to kjønnslepper som møtes, ventralt for rektum. Vulva påvirkes av østrogen under brunsten ved å svulme opp og

får en rød farge pga. økt blodtilførsel (Duby, 2007). Kjønnssleppene må spres når inseminatoren blir ført videre inn i vagina.

## **Vagina**

Vagina (skjeden) er tynnvegget og finnes kaudalt for portio som snevrer inn lumen kranialt. Vagina ligger i bekkenhulen med urinblæren ventralt og rektum dorsalt. Uretra munner ut i den kaudale delen av vagina. Derfor skal inseminatoren rettes dorsalt før den rettes ut når den føres inn, for å ikke føres inn i uretra. I vagina er det kjertelslimhinne som produserer slim som avgir lukt i brunsten for å påvirke oksen (König & Liebich, 2014). Fra vagina føres inseminatoren videre til portio og inn i cervix.



*Figur 6: Viser portio, åpningen inn til cervix fra vagina. Foto: Anne Hege Hunskaar Tajet, Geno.*

## **Cervix uteri**

Cervix uteri (cervix) er en tykkvegget struktur kaudalt for corpus uteri og utgjør forbindelsen mellom uterus og vagina. Cervix kan palperes rektalt pga. den tykke veggen med tre eller fire bruskringer (annularfolder) og kan fikseres i hånden ved inseminering (Duby, 2007).

For å få inseminatoren inn cervix møter man først på portio vaginalis kaudalt. Portio kan palperes transrektalt. Lumen i cervix inneholder slimhinnefolder som får det til å ligne et «glidelåsmønster». I brunsten vil lumen i cervix være mer åpen, og det er lettere å få ført en inseminator gjennom kanalen for deponering av sæddosen i corpus uteri (König & Liebich, 2014).

Det er cervix sine anatomiske forhold oppgaven handler om, og hvordan dette påvirker ikke-omløpsprosenten hos kviger. Ved cervikal deponering av sæd har det vært grunnet trang (kode 58) eller bøyd/vinklet (kode 59) cervix. Ved normal inseminering føres inseminatoren gjennom cervix til corpus uteri.



*Figur 5: Viser bruskefoldene i cervix. Foto: Anne Hege Hunskaar Tajet, Geno.*

## **Uterus**

Uterus er også kalt «børen» på folkemunne. Hos storfe er uterus delt inn i «kropp» (corpus uteri) og to horn (cornea uteri) som åpnes separat inn til corpus uteri. Mellom cornea uteri finner man ligamentum intercornealis, som gjør at man kan fikse uterus ved rektal

undersøkelse ved inseminering eller drektighetsundersøkelse. Organet endrer seg gjennom en brunstsyklus og ettersom den er drektig eller ikke (König & Liebich, 2014). Ved kunstig inseminering deponeres sæddosen i innmunningen til corpus uteri. Herifra starter spermienes vandring til ovidukten.

### **Ovidukten**

Spermierne fortsetter sin vandring fra uterus og fordeles i cornea uteri, og videre inn i ovidukten som deles inn i tre deler. Ovidukten mottar oocytten i infundibulum (1) etter ovulasjon, samtidig som det frakter spermier opp fra uterus. Ampullen (2) er der hvor fertiliseringen foregår. Oocytten befinner seg her noen dager før den går videre ned i siste del av egglederen kalt isthmus (3). Fra isthmus vil oocytten slippes ut i uterushornet (König & Liebich, 2014).

### **Ovariet**

Ovariens plassering avhenger av om det er ei kvige eller ku, etter antall kalver, og om hun er drektig eller ikke. Hos kviger befinner ovariene seg som regel inne i bekkenhulen. Ovariene har et karakteristisk ellipsoformet utseende. De er 4–6 cm i lengde hos ku, og lett palperbare (König & Liebich, 2014).

Ovariene er delt inn i medulla og cortex. I cortex finnes follikler og de ulike stadiene av corpus luteum. Ovariene produserer både kjønnshormoner og oocytter (König & Liebich, 2014; Mescher, 2016).

## **Follikler**

Ovariene inneholder follikler, av ulik størrelse, som står for produksjon av oocytter gjennom en prosess kalt oogenese. Folliklene inneholder én oocytt og dannes når kviga begynner sin brunstsyklus. Folliklene vokser frem under påvirkning av FSH og LH. Basert på størrelsen og differensiering av follikkelen får de navn etter stadiet; primordial, primær, sekundær, tertiær og Graafsk follikkel. Disse stadiene vil ikke bli beskrevet nærmere. Det er kun den Graafske follikkelen som ovulerer, og dette skjer under påvirkning av LH. Follikkelen kan også kjennes ved palpasjon da den er 2 cm i diameter. De resterende folliklene vil tilbakedannes (König & Liebich, 2014). Dette blir nærmere beskrevet under avsnittet om HPG-aksen.



*Figur 3: Viser follikler på ovariet. Foto: Anne Hege Hunskaar Tajet, Geno.*

## **Corpus luteum**

Corpus luteum (CL), det gule legemet, dannes der follikkelen har ovulert. Etter ovulasjon skjer en blødning og det dannes et hulrom. Her dannes corpus haemorrhagicum (CH) (König & Liebich, 2014).

Hos et storfe som ikke er drektig vil det dannes et «syklisk CL» med økt vaskularisering etter ovulasjon og proliferasjon. CL modnes, før det vil degenerere og ende med et bindevevsarr kalt corpus albicans (König & Liebich, 2014).

I den drektige uterus, har vi et fullt utviklet CL, kalt corpus luteum graviditatis (CLG). Dette består gjennom hele drectigheten og produserer hormonet progesteron (P4), som forbereder uterus til implantasjon av den befruktede oocytten. I tillegg til CLG vil det være oppvekst av follikler underveis i drectigheten, der det blir produsert østrogen som kan gi ulike adferdsendringer i løpet av drectigheten (König & Liebich, 2014). Både CL og follikler kan palperes ved rektalisering.



Figur 4: Viser CL på ovariet utvendig og innvendig. Foto: Anne Hege Hunskaar Tajet, Geno.

## Kjønnsmodning hos kviger

Ei normalt utviklet NRF-kvige har sin første brunst ved ca 10–11 måneders alder og markerer når puberteten starter, samt videre kjønnsmodning. Dette varierer fra 7 til 24 måneder. Tiden for når puberteten inntreffer er et resultat av næringstilgang, årstid, nærhet av okse, endokrinologi osv. (Naokes et al., 2001). Puberteten og begynnende sykliske brunstsykluser skjer ved 40–45 % av voksen kroppsvekt, ca. 280–300 kg. Ei voksen NRF-ku veier 550–650 kg (Geno, 2023b; Refsdal et al., 2014a).

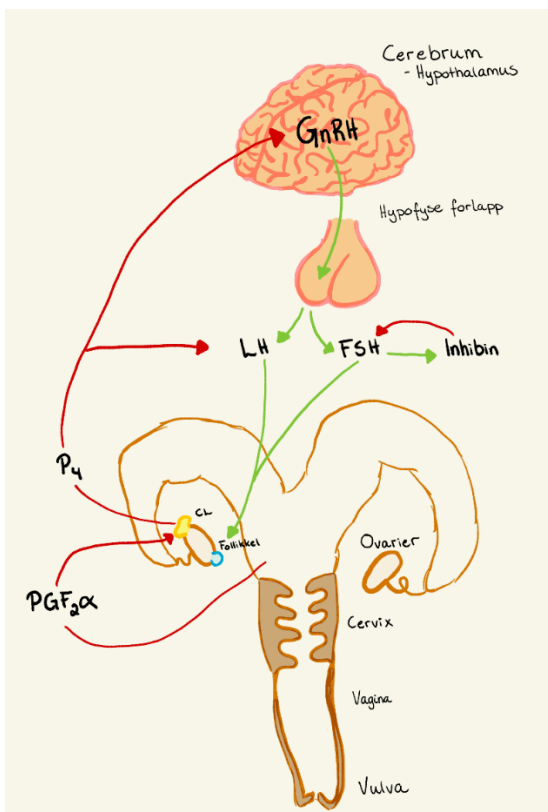
Tidspunktet for når ei NRF-kvige bør insemineres er mer avhengig av vekt enn alder. Kviga bør være 2/3 av voksenvekt, ca. 400 kg (165–170 cm brystmål) ved første inseminering. I

praksis betyr det at kviger i Norge insemineres ved 14–16 måneders alder. Ønsket innkalvingsalder i Norge er ved 24 måneders alder og gjennomsnittet nasjonalt er 25,7 måneder (Geno, 2020b).

## Fysiologi

### Hypotalamus–hypofyse–gonade-aksen

Reproduksjon handler om å produsere avkom der flere organer og endokrine hormoner er involvert. Reproduksjonsfysiologien skjer vha. et samspill mellom hypothalamus, hypofysen og gonadene. Endringene i kjønnsorganet gjennom brunstsyklusen skjer gjennom en positiv og negativ feedback-mekanisme som responderer på kjønns hormoner i blodet (Cortes, u.å.; Sjaastad et al., 2016).



Figur 7: Oversikt over HPG-aksen. Grønne piler viser positiv feedback, og røde piler viser negativ feedback. Tegning av Anita Lundby.



Hormonene som inngår i normal reproduksjon produseres av hypothalamus, hypofysens forlapp, uterus og ovariene. Disse transporteres av blod og lymfe for å komme fram til målorgan og får utøvd sin virkning.

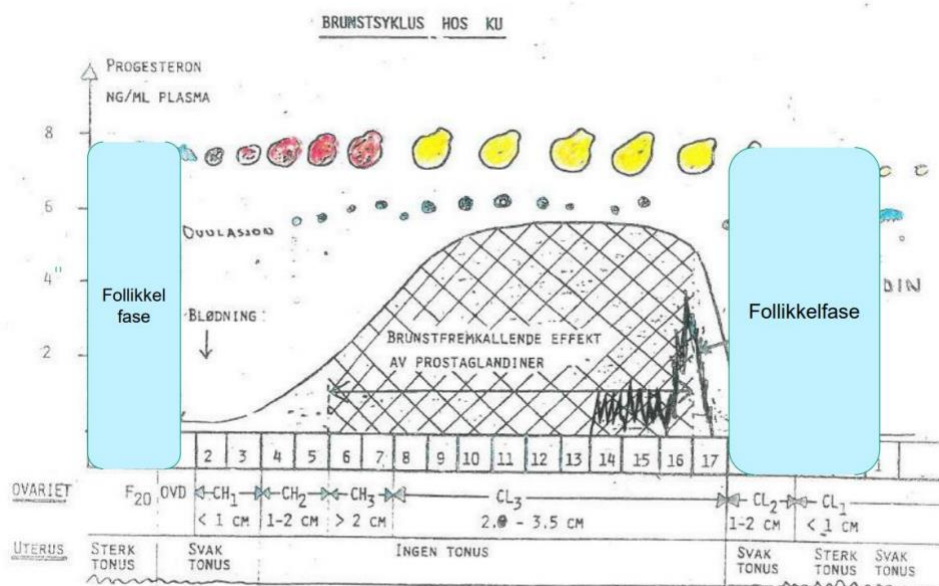
Tabell 2: Oversikt over kjønnshormonene, og hvor de produseres.

Organ		Hormonproduksjon
Hypothalamus		GnRH
Hypofysen		FSH, LH
Uterus		Prostaglandin
Ovarier	Folikler (voksende)	Østrogener
	Folikler	Inhibin
	CL	Progesteron

Hypothalamus er et område i hjernen (diencefalon) som er med og kontrollerer store deler reproduksjonsfysiologien ved å produsere nevrohormonet GnRH. GnRH blir transportert til fremre del av hypofysen som igjen responderer med sekresjon av FSH og LH. FSH og LH har en negativ feedback-mekanisme på den pre-ovulatoriske GnRH som kommer fra «surgesenteret» i hypothalamus (Sjaastad et al., 2016).

Follikkelfasen består av proøstrus og østrus. Denne fasen handler om den voksende, dominante follikkelen som produserer østrogen og som ender i ovulasjon. Prostaglandiner fra uterus vil bryte ned CL fra forrige syklus, som gir reduksjon i P4. P4 har gjennom midtsyklus hatt negativ feedback på GnRH, FSH og LH.

FSH påvirker ovariene til follikkelvekst som gir produksjon av østrogener, som igjen gir økt aktivitet i kjønnsveiene og adferdsendringer som er beskrevet senere. FSH påvirker også frislipp av inhibin, som igjen hemmer sekresjon av FSH. Da vil det være en høyere sekresjon av LH som bidrar til follikkelmodning, ovulasjon og luteinisering av restene fra follikkelvevet, og til slutt danne et nytt CL i midtsyklusen. Det er den ovulatoriske LH-bølgen som fører til ovulasjon (Cortes, u.å.; Sjaastad et al., 2016).



Figur 8: Viser brunstsyklus hos ku, av Knut Karlberg, ProdMed, NMBU.

Lutealfasen starter etter eggøsning og består av metøstrus og diøstrus. Det er CL som er dominerende i lutealfasen. I metøstrus, 1–2 dager etter ovulasjon, skjer vanligvis en blødning, og dannelse av et CH. Dette er et rødt legeme pga. stort innhold av blodkar, og som vokser i størrelse de neste dagene og blir gradvis gult. CL blir dannet i løpet av diøstrus. CL er en midlertidig endokrin struktur på ovariene som produserer P4 gjennom midtsyklusen (dag 7–17). P4 er et hormon som dannes fra cellene som er igjen fra follikkelen, og gjør at en drektighet kan bestå. Progesteronproduksjonen varer fram til degenerasjon av CL, og ny follikkelfase starter.

Gjennom diøstrus er det normalt med 2–3 follikkelbølger, gjerne rundt dag 6 og dag 12–14 der vi får en liten sekresjon med østrogen pga. oppvekst av follikler, men som raskt tilbakedannes. Det er én follikkel fra den siste follikkelbølgen som får vokse fram til å bli dominant (Graafsk). Østrogenproduksjonen fra midtsyklusfolliklene gjør at man kan se brunstadferd gjennom diøstrus. Progesteronet ligger på 8–10 ng/ml i plasma fra dag 7–8 etter ovulasjon, og reduseres fra dag 18 dersom det ikke skjer en befruktning. For at CL skal bestå, er kua avhengig av å bli inseminert i brunsten og bli drektig, ellers vil prostaglandiner fra uterus bryte ned CL fra ca. dag 17 og gi luteolyse. Luteolyse vil innlede en ny follikkelfase med GnRH-sekresjon fra hypothalamus, og ny frigjøring av FSH og LH (Naokes et al., 2001; Refsdal et al., 2014a; Sjaastad et al., 2016).

Tabell 3: Oversikt over lengden av follikkel- og lutealfase, samt fasene i brunstsyklus.

		Varighet
Follikkelfasen	Forbrunsten, proøstrus	4–6 dager
	Brunsten, østrus	
Lutealfasen	Etterbrunsten, metøstrus	14–18 dager
	Midtsyklus, diøstrus	

## Brunstsyklus

Storfe har i gjennomsnitt en brunstsyklus på 21 dager (18–24 dager). Kviger har normalt 1–2 dager kortere sykluslengde enn voksne kyr. Storfe er kontinuerlig polyøstrale dyr og vil dermed ha flere brunstsykluser i løpet av et år, dersom de ikke blir drektige. Man kan komme borti storfe i veterinærpraksis der kua ikke viser noen brunstaktivitet, og dermed ikke er i syklus (anøstrus). Dette regnes ikke som normalt og blir omtalt senere.

Tabell 4: Oversikt over brunstsyklus med de ulike stadiene. Parenteser tilsvarer normale variasjoner mellom individer.

Fase	Varighet		Ca. dag i syklus
<b>Forbrunst (proøstrus)</b>	1–3 dager		Dag 18–20
<b>Brunst (østrus)</b>	Tidligbrunst	Ca 18 timer (6–30 timer)	Dag 21
	Ståbrunst		
	Senbrunst		
<b>Eggløsning (ovulasjon)</b>	12 timer etter brunstens slutt, eller 30 timer etter starten av brunsten.		Dag 1
<b>Etterbrunst (metøstrus)</b>	Blødning 1–2 døgn etter brunst.		Dag 2–17
<b>Midtsyklus (diøstrus)</b>	Ca. 14 dager		

### Brunstdeteksjon og brunsttegn

Brunst kan beskrives som «den vanligste betegnelse på hunddyrets adferd når en ovulasjon er forestående». Kyr i brunst får ofte en adferdsendring, samt ytre forandringer som gårdbrukeren registrerer, og kan derfor planlegge insemineringen. Gjennom god brunstdeteksjon blir det bedre resultater ved insemineringsarbeidet da det er et smalt vindu for optimalt insemineringstidspunkt (Ropstad, 1992). Brunsten deles inn i tre faser: forbrunst, brunst og etterbrunst.

### Forbrunsten

Brunsten innledes med forbrunst som normalt varer 1–3 dager. I denne fasen vil det bli økende aktivitet og interesse for andre dyr. Kua/kviga kan gni seg mot andre kyr og ha hårløse områder ved halerota etter å ha blitt ridd på. Ridning, hodehviling og snusing bak er

vanlige tegn i forbrunsten. Disse adferdsendringene sees gjerne rett før brunst (DuPonte, 2007; Refsdal et al., 2014a).

Ved brunstdeteksjon ser man ofte etter slim. I forbrunsten er slimet grått og seigt. Det blir gradvis mer tyntflytende og klart desto nærmere brunsten kua kommer. Vulva vil også etter hvert hovne opp og bli rødere når brunsten nærmer seg. Sammen med redusert melkeytelse, appetitt og fôropptak er dette de viktigste tegnene på at kua er på vei inn i brunst. Når det går mot den mørke årstiden, kan denne fasen være uten synlige tegn (Refsdal et al., 2014b).

### **Brunsten**

Dette er perioden der kua aksepterer oxen og vil la seg bedekke mens hun står rolig.

Brunsten varer i gjennomsnitt i 18 timer, med individuelle variasjoner fra 6 til 30 timer. Selve brunsten deles inn i tre perioder: tidligbrunst, høybrunst/ståbrunst og senbrunst (Refsdal et al., 2014b). Kyr i brunst går fra å være aktive til stillestående desto nærmere høybrunsten dyret kommer. Ved gjørmete (beite) eller skitne underlag kan man se skitt på sidene til den høybrunstige kua etter at andre dyr har ridd (DuPonte, 2007). I brunsten vil en fortsatt se den samme adferden som i forbrunsten: kjevehviling, snusing bak, flehmen-effekten (vrenge leppa), urolighet, rauting, nedsatt appetitt og melkeytelse. Kyr i brunst vil også gjerne stå, mens de andre dyrene ligger.

Overgangen fra forbrunsten til brunsten skjer gradvis, noe som gjør det vanskelig å skille de to periodene fra hverandre. Det gjør at en risikerer å inseminere for tidlig. Slimet går fra å være grått og seigt til mer trådtrekkende og klart i fargen. Det kan også være luftblærer i slimet. Vulva er mer oppsvulmet og rødlig (Refsdal et al., 2014b).

Dyr i løsdrift som er på vei inn i brunst i samme tidsrom, vil gjerne gå sammen og lage «seksuelt aktive grupper» (SAG). Dette er små grupper på tre til fem dyr som er i nærheten av hverandre og viser brunsttegn, enten i forbrunsten eller brunsten. Kyrne rundt den brunstige kua vil da veksle på å være partner (DuPont, 2007; Refsdal et al., 2014a). Dette kan være en nyttig observasjon i arbeidet med brunstdeteksjon.

Det kan være vanskelig å skille brunst fra forbrunsten, og en kan risikere å inseminere for tidlig. Et av de sikreste tegnene er at kua står for ridning; dette vil være et godt insemineringstidspunkt. Det vil kun være mulig å se i løsdriftsfjøs (Refsdal et al., 2014b).



Figur 9: Bobler i slimet hos storfe i høybrunst. Foto: Anne Hege Hunskaar Tajet, Geno.

### **Etterbrunsten**

Den siste fasen av brunsten, 1–2 dager etter brunstens slutt, vil kua bli roligere og adferdssymptomene beskrevet over, vil gi seg. Det kan være noe slimproduksjon igjen, men sparsomt, og vulva vil gå tilbake til normal størrelse igjen. Hos 60 % av kuene og 80 % av kvigene vil det være en blødning 1–2 døgn etter brunstens slutt (Refsdal et al., 2014b).

Dersom kua blir drektig, så vil neste brunstsyklus bli satt på vent.

## Forhold hos kua som påvirker fruktbarheten

### Energibalanse

Kuas energibalanse spiller en sentral rolle for god fruktbarhet (Roche et al., 2009). Negativ energibalanse (NEB) inntreffer når kuas samlede energibehov ikke lenger dekkes gjennom fôropptaket. Melkekyr havner i negativ energibalanse særlig i perioden 2 uker før kalving da fostrene krever mye energi, til 4–8 uker etter kalving da melkeytelsen er på sitt høyeste. Rask økning i melkeytelse, lavere fôropptak og appetitt, sammen med økt mobilisering av energireserver gjør kua utsatt for tap av hold og påfølgende redusert fruktbarhet.

Sammenhengen mellom tap av hold, eller body condition score (BCS), og redusert fertilitet er godt studert. Mobilisering av fettvev for omdannelse til energi, lipolyse, er en essensiell metabolsk reaksjonsvei for å imøtekomme det økte energibehovet etter kalving. Noe tap av hold etter kalving er normalt, men større holdtap vil kunne ha negativ innvirkning på fruktbarhet i form av forsinket igangsetting av østrussyklus etter kalving og utvikling av metabolsk sykdom. Igangsetting av østrussyklus etter kalving er avhengig av tilstrekkelig produksjon av LH. Negativ energibalanse i kombinasjon med holdtap, hemmer både LH- og østrogenproduksjon, og resulterer i forsinket igangsetting av syklus (Diskin et al., 2003). Det er også en sterk sammenheng mellom holdtap etter kalving og utvikling av eggstokkcyster (Refsdal et al., 2014b). Raskt tap av hold etter kalving setter kua i en fysiologisk stress-situasjon. Økt stress har en hemmende effekt på HPG-aksen og påfølgende follikkelutvikling og eggløsning. Utvikling av eggstokkcyster har igjen sterk sammenheng med ketose.

Til sammenligning er kviger særlig utsatt for holdtap de siste ukene før kalving når fosterets energibehov øker betraktelig. God kontroll med holdet hos kviger før kalving kreves for å

unngå uønskede effekter i form av forlenget brunstintervall, svake/opphørte brunsttegn eller asykli post-partum. Videre er holdet hos kviger ved tidspunkt for inseminering meget viktig for å unngå feite kviger ved kalving og påfølgende nevnte negative effekter på fruktbarhet.

## **Brunst**

Høytytende melkekyr har i gjennomsnitt kortere brunst og svakere brunsttegn (Walsh et al., 2011). Kviger har lengre brunster og tydeligere ytre brunsttegn. Noe av forklaringen er foreslått til å være at kviger, sammenlignet med høytytende melkekyr, har høyere nivåer av østrogen i blodet over en lengre periode. En studie (Sartori et al., 2004) som sammenlignet østrussyklusen mellom Holstein-kyr og -kviger, viste at kviger normalt har høyere nivåer av østrogen i serum ved brunst enn lakterende melkekyr, til tross for at melkekyr i gjennomsnitt har større follikler. Kvigene hadde også høyere maksimalt nivå av P4 i serum, selv om melkekyrne i gjennomsnitt hadde mer progesteron-produserende luteint vev. En foreslått forklaring på forskjellen er at melkekyr har høyere fôrinntak og påfølgende økt blodstrøm fra fordøyelsessystemet til lever. Økt blodgjennomstrømming i lever gir høyere metabolsk clearance for steroidhormonene og dermed lavere blodnivåer.

Høytytende melkekyr er også mer utsatt for klinisk og subklinisk sykdom post-partum.

Individer som utvikler klinisk mastitt post-partum har i gjennomsnitt flere inseminasjoner per påbegynt ku og økt tid fra kalving til første inseminering (KFI) (Walsh et al., 2011). Kyr med halthet etter kalving har 2,63 ganger høyere sannsynlighet for utvikling av eggstokkcyster og påfølgende uregelmessig brunst.



## **Ovulasjon**

Evne til normal ovulasjon er en selvsagt betingelse for å kunne bli drektig. Igangsettelse av brunstsyklus og follikkelutvikling post-partum med påfølgende eggøsning av oocyt med god «utviklings-kompetanse», er viktig for gode drektighetsresultater. Nevnte faktorer som økt stress og lavt insulinnivå, påvirker follikkelutvikling negativt. Oocyt av god utviklingskompetanse kan defineres som evnen til å fullføre modning, bli fertilisert, nå blastocyst-stadiet og føre til en levedyktig, sunn kalv (Blondin et al., 2012).

I følge Refsdal et al. (2014b) er det ikke befruktningsproblemer som er årsaken til omløp hos NRF, da opptil 90 % av eggene normalt befruktes. Dette kan tyde på at NRF generelt utvikler oocytter som har god evne til å fullføre modning og bli fertilisert. Samtidig er embryodød en viktig årsak til omløp også hos NRF, da særlig eldre kyr. I et nyere studie har effekten av paternale gener på embryoutvikling blitt undersøkt, hvor det ble funnet en signifikant forskjell i embryokvalitet når eggene ble befruktet med sæd fra okser med hhv. høy og lav fertilitet (Diaz-Lundahl, Sofia et al., 2022). Andre viktige årsaker til tidlig embryodød er hormonelle forstyrrelser, negativ energibalanse, infeksjoner og arvelige faktorer, men disse vil ikke bli videre diskutert i denne oppgaven.

## **Progesteronproduksjon**

I den første tiden etter ovulasjon spiller P4 en særlig stor rolle i å legge forholdene til rette for utviklingen fra blastocyst-stadiet fra dag 7, frem til implantasjon dag 16–18. En nyere studie gjengitt av Walsh et al. (2011) viser også en sammenheng mellom rask økning av progesteronproduksjon etter ovulasjon og bedre sannsynlighet for opprettholdt drektighet. Raskere progesteronproduksjon gir større embryoer som produserer mer fostergjenkjennelses-

hormon, interferon-tau (IFNT). Høyere produksjon av IFNT øker sannsynligheten for maternal gjenkjennelse av embryo slik at drektigheten opprettholdes.

### **Endometriet**

At endometriet utsettes for høye progesteronnivåer i lutealfasen er en forutsetning for at drektighet skal kunne opprettholdes. P4 har en hemmende effekt på oppkonsentrasjon av prostaglandinreseptorer (PGR) og hindrer slik prostaglandin å utøve sin luteolytiske effekt mot slutten av lutealfasen. Videre er effekten av høye nivåer av P4 på embryoutvikling studert og oppsummert av (Lonergan & Sánchez, 2020), og særlig tidlig i embryoutviklingen (dag 7–24) mener man at konsentrasjonen av P4 i mikromiljøet i uterus er betydningsfullt for hvorvidt embryoet utvikles normalt eller dør. Progesteron påvirker også uterinvæskens sammensetning av aminosyrer, glukose, cytokiner og vekstfaktorer ved å regulere genuttrykk hos epitelcellene i endometriet, slik at det uterine miljøet blir mer fordelaktig for embryoutvikling (Brooks et al., 2014).

### **Fostergjenkjennelse**

Som nevnt er IFNT identifisert som det viktigste signalstoffet for fostergjenkjennelse hos bovine arter. IFNT produseres av trofoblastceller i embryoet og er et luteotrop signalstoff, altså stimulerer IFNT CL til å fortsette sin produksjon av progesteron på samme måte som LH gjør. Mengden IFNT som produseres er som nevnt sterkt relatert til embryostørrelse. Etter hvert som embryoet vokser krever det økt blodtilførsel. Forlengelsen av embryoet før implantasjon øker kontaktflaten mot maternalt vev og sikrer slik næring for videre utvikling. Forlengelsen av embryoet gir økt produksjon av IFNT, og er helt avgjørende for maternal gjenkjennelse av fosteret og opprettholdelse av drektighet (Kowalczyk et al., 2021).

## **Sykdom post-partum**

### **Ketose**

Ketonlegemer er et viktig alternativ til glukose som energikilde, men høye nivåer over tid gir sykdommen ketose. Ketose utvikles når ketonlegemer hopper seg opp i blodet samtidig som glukosenivået er lavt. Høye mengder ketonlegemer og lavt blodsukker påvirker frisetting av gonadotropinene FSH og LH som er viktig for follikkelutvikling og eggløsning. Dette kan resultere i brunstmangel eller svak brunst, og kan føre til utvikling av eggstokkcyster.

Subklinisk ketose er også satt i sammenheng med redusert fruktbarhet hos melkekyr (Walsh et al., 2007). I nevnte studiet gjort på Holstein-kyr, ble det konkludert med at individer diagnostisert med subklinisk ketose i enten 1. eller 2. uke etter kalving, hadde 20 % lavere sannsynlighet for å bli drektig etter første inseminering. Videre hadde individer som fikk påvist subklinisk ketose i begge ukene etter kalving, 50 % lavere sannsynlighet for drektighet.

### **Melkefeber**

Dyr som er utsatt for å havne i NEB er også utsatt for mangelsykdommer som hypokalsemi, eller melkefeber. Dyr i over middels hold har nedsatt appetitt og dårligere forutsetninger for å dekke deler av det store kalsiumbehovet i starten av laktasjonen gjennom fôret. Videre er kyr som utvikler melkefeber mer utsatt for annen sykdom da hypokalsemi har en negativ effekt på immunforsvaret (Kimura et al., 2006). Mangelen på tilgjengelig kalsium intracellulært hos immunceller, gjør at normal aktivering av immuncellene via intracellulær økning i  $Ca^{2+}$ -nivåer hemmes. Videre gjør kalsiummangel glattmuskulaturen i børen svakere og mer åpen for sykdomsfremmede bakterier. Dette vil kunne føre til utvikling av akutt borbetennelse (oftest <3 uker etter kalving), eller mild borbetennelse (>3 uker etter kalving).

## Uterin sykdom

I den første tiden etter kalving er kjønnsveiene åpne og særlig utsatt for kontaminering med sykdomsbringende agens. De aller fleste individer har i denne perioden en normalt høy forekomst av polymorfkjernede nøytrofile (PMN) i uterus. Igangsetting av brunstsyklusen etter kalving, særlig 1. og 2. brunst, sammen med kuas immunforsvar bidrar til å rense uterus for bakterier og hindrer infeksjon. Allikevel får noen individer børbetennelse etter kalving, og det er en sykdom som lenge har blitt satt i sammenheng med redusert fruktbarhet hos melkekyr.

Børbetennelse de første 10 dagene etter kalving er oftest en akutt form. Kua har ofte høy feber, rødbrun illeluktende utflod fra skjeden, nedsatt matlyst og er allment påkjent. De viktigste disponerende faktorene er fødselsvansker, tilbakeholdt etterbyrd og kasting. Annen sykdom som bør- og skjedefremfall og NEB med påfølgende metabolsk sykdom som ketose kan også disponere for børbetennelse. Behandling vil i de fleste tilfeller inkludere antibiotika sammen med smerte- og betennelsesdempende legemidler.

Mild børbetennelse, tidligere kalt endometritt, er definert som påvist purulent vaginal utflod mer enn 3 uker etter kalving, uten andre kliniske tegn. Individer med mild børbetennelse er ikke allment påkjent og har ikke feber. Disse individene vil som oftest ha gjenopptatt brunstsyklusen etter kalving og behandles mest effektivt med hormoner (prostaglandiner) for å «tvinge» de inn i en ny brunst slik at uterus renses naturlig.

Subklinisk endometritt er definert som tilstedeværelse av PMN i uterus over en viss grense, uten noen kliniske tegn på sykdom (Kasimanickam et al., 2004). Historisk har subklinisk endometritt vært viet lite oppmerksomhet, også her til lands. Mye av årsaken har nok vært

manglende kunnskap om hvor utbredt subklinisk endometritt er hos melkekyr i Norge, og hvilken grad sykdommen påvirker fruktbarhet. En studie gjort på forekomst av mild borbetennelse og subklinisk endometritt hos Holstein-kyr i USA (Gilbert et al., 2005) konkluderte med at langt flere kyr en først antatt står med en inflammasjon i uterus i perioden tidlig post-partum, og at de individene som ikke klarer å bli kvitt inflammasjonen, er utsatt for langt dårligere fruktbarhetsresultater. I de siste 20 årene har diagnosen vært viet mye oppmerksomhet også her til lands. I en nylig studie gjort på arvbarhet og prevalens av sykdommen hos NRF (Diaz-Lundahl, S. et al., 2022), ble det observert en sammenheng mellom genetik og utvikling av subklinisk endometritt, noe som i fremtiden kan bidra til å justere avlsmålet for å avle dyr som er mer motstandsdyktig mot uterin inflammasjon.

### **Tilbakeholdt etterbyrd**

Diagnosen tilbakeholdt etterbyrd stilles hvis etterbyrden ikke er avgått 12 timer etter kalving. Normalt kommer etterbyrden innen 1–2 timer etter kalving, men i noen tilfeller skjer ikke dette. Det er diskutert flere årsaksforhold som kan forårsake lidelsen, og de som nevnes oftest er fødselsvansker / langvarig fødsel, dødfødte kalver, abort, hormonbehandling for igangsetting av fødsel og melkefeber (Refsdal et al., 2014b).

### **Eggstokkcyster**

Eggstokkcyster er en viktig årsak til uregelmessige eller stille brunster hos norske melkekyr, og er en viktig årsak til forlenget kalvingsintervall og nedsatt fruktbarhet i melkekubesetninger. Eggstokkcyster oppstår oftest mellom 14 og 40 dager etter kalving (Borš & Borš, 2020) Eggstokkcyster deles inn i to typer: follikelcyster og luteincyster. Begge typer cyster oppstår når eggblæren ikke ovulerer på normal måte, men fortsetter å

vokse. Luteincyster skiller seg fra follikkelcystene ved at de er mer tykkvegget og produserer progesteron. I klinisk praksis er det vanskelig å skille mellom de to typene, og begge defineres som follikkellignende strukturer på et eller begge ovarier, som er over 20 mm i diameter, uten at aktivt luteinvev er til stede, og som åpenbart påvirker normal brunstsyklus (Vanholder et al., 2006). Patogenesen for eggstokkcyster er kompleks, og det er mange forhold som ser ut til å virke inn. Stress og NEB anses som viktige årsaksforhold da de har en hemmende effekt på HPG-aksen. Dette kan resultere i redusert LH-frisetting og påfølgende manglende ovulasjon med dannelse av en eller flere cyster. Som tidligere nevnt er det påvist en sterk sammenheng mellom ketose og eggstokkcyster.

## **Annen sykdom som påvirker fruktbarhet**

### **Mastitt**

Klinisk mastitt er en viktig tapsbringende sykdom for melkeprodusenter. I tillegg til redusert kvalitet på melka, dårligere kvotefylling, utsjaltninger og økte veterinærkostnader, er mastitt også satt i sammenheng med redusert fruktbarhet. Årsaksforholdene er ikke fullstendig kartlagt, men mye tyder på at endotoksin-produserende bakterier i juret, bidrar til en systemisk immunrespons. Dannelse av proinflammatoriske substanser som prostaglandiner, cytokiner og andre genregulerende proteiner påvirker embryoutvikling negativt (Wang et al., 2021). I tillegg er det diskutert om en økning i prostaglandiner i ovariene vil kunne føre til at det gule legemet tilbakedannes slik at progesteronnivået reduseres og en eventuell drektighet ikke kan opprettholdes.

Subklinisk mastitt er også vist å kunne ha en negativ effekt på fruktbarhet. En studie konkluderte med at subklinisk mastitt har en hemmende effekt på den follikulære

produksjonen av østrogen i granulocellene og på den androgene produksjonen i thecacellene. Dette resulterer i redusert effekt av FSH og LH og påfølgende hemmet modning av de preovulatoriske folliklene og forsinket ovulasjon (Wolfenson et al., 2015).

## **Miljøfaktorer som påvirker fruktbarhet**

### **Stress**

Stress er påvist å gi nedsatt fruktbarhet (Refsdal et al., 2014b). Særlig i tiden rundt brunst frem til ca. 6 uker etter inseminasjon er det viktig med lavt stressnivå. Sykdom, uro, mobbing, varmestress eller trengsel i fjøset er eksempler på vanlige årsaker til økt stress. Mangel på mat, vann eller liggeplass, dårlig ventilasjon eller andre mangler i miljøet vil også kunne gi mer stress og redusert fruktbarhet.

### **Lys**

Nok dagslys er viktig for reproduksjon hos storfe (Dirandeh et al., 2022). Ekstra lys, særlig i mørkeperioden om vinteren, har vist seg å ha positiv effekt på reproduksjon og melkeproduksjon. Riktig forhold mellom lys- og mørketid i løpet av døgnet spiller også en rolle. En lysstyrke på 75 lux i 12–16 timer pr. døgn er optimalt. Videre er svakt orienteringslys om natten vist å ha positiv effekt på fruktbarhet (Reksen et al., 1999).

## **Utviklingsfeil hos kviger som påvirker fruktbarhet**

### **Freemartin**

Freemartin oppstår når det dannes en vaskulær forbindelse i fosterlivet mellom to heteroseksuelle tvillingkalver. Det oppstår da en kimerisme, eller utveksling av kromosomer

mellom fostrene. Kvigekalven mottar XY-kromosomer fra oksekalven og får XX/XY-kimerisme, noe som fører til at kvigekalvens kjønnsorgan maskuliniseres i ulik grad. I de aller fleste tilfeller, omtrent 80–95 %, blir kvigekalven steril (Padula, 2005). Oksekalven er normalt utviklet ved fødsel. I tilfeller hvor oksekalven dør tidlig i fosterlivet, vil kvigekalven fødes alene og mistanken om Freemartinisme vekkes ikke før kviga er av kjønnsmoden alder uten å vise brunst.

Diagnosen stilles av veterinær ved rektal palpasjon av kjønnsorgan hos kjønnsmoden kvige. I noen tilfeller vil kvigekalvens ytre kjønnsorganer bære preg av misdannelse. Særlig forstørret klitoris og en mer maskulin kroppsbygning vekker mistanke om misdannelsen. Måling av kjedelengde kan i noen tilfeller være en måte å stille en sikker diagnose, men ytre og delvis indre kjønnsorganer kan være normale, selv om kviga er steril.

Hverken avlsforeningen for NRF eller Norsk kjøttfeavlslag, hhv. GENO og Tyr, vektlegger tvillingfødsler i sitt avlsarbeid. Og det er ingen grunn til å tro at andelen tvillingfødsler hos NRF er mer enn det som normalt må forventes. NRF som kombinasjonsrase tilegner de sterile kvigene verdi som slakt, selv om de ikke kan tas inn i melkeproduksjonen.

### **Eggstokkhypoplasi**

Dette er en misdannelse i eggstokkene som følge av at det ikke dannes en normal forbindelse mellom det som skal bli eggstokk og det som skal bli blæreanlegget i fosterlivet. Dette medfører at normal follikkelmodning og ovulasjon ikke blir mulig og affisert eggstokk med tilhørende uterint horn kan ikke bli drektig. Er misdannelsen ensidig vil individet allikevel kunne vise brunst og bli drektig på den normale siden (Refsdal et al., 2014b). Diagnosen mistenkes ved rektal palpasjon av kviger som ikke kommer i brunst, eller som ikke blir



drektige. Ved rektal palpasjon har kjønnsorganet på affisert side en tubulær form. Ovariene er svært små, og ultralydundersøkelse vil avdekke at affisert eggstokk har svært få / ingen primærfollikler. Individuer med dobbeltsidig, total eggstokkhypoplasi vil ikke vise brunst eller kunne bli drektige, og kan lettere plukkes ut og slaktes. Som nevnt kan individer med ensidig eggstokkhypoplasi vise brunst. Disse vil være en utfordring å identifisere, særlig i besetninger som bruker okse for naturlig bedekning. Misdannelsen er påvist å være arvelig og avkom av individer med ensidig eggstokkhypoplasi skal ikke brukes videre i avl.

### **Utviklingsfeil i bør og børhals**

I noen tilfeller kan det ha skjedd en feil i fosterlivet ved utvikling av anlegget som skal bli til urogenitalsystemet hos kvigekalven. Mangelfull fusjon av Müllers ganger, kan føre til misdannelser som negativt påvirker fruktbarhet. Ulike misdannelser beskrevet hos Holstein-kyr er blant annet 1) dobbel livmor, 2) dobbel cervix, 3) delvis børmangel og 4) blindvei i cervix (Ishiyama et al., 2019). Blindveier i kjønnsveiene vil kunne gi utfordringer med inseminasjon, og individer med alvorlige misdannelser vil ofte være sterile. Misdannelsen antas arvelig og er beskrevet hos flere raser med varierende prevalens.

### **Fruktbarhet som styringsverktøy**

#### **FS-tall**

Tallet på fruktbarhet er satt sammen av flere egenskaper, som indirekte beskriver fruktbarheten til et individ eller en besetning som helhet. For å tallfeste fruktbarhet i en besetning brukes FS-tall. FS-tallet, eller fruktbarhetsstatus, er en indeks som er sammensatt av flere måltall for fruktbarhet i besetningen. Måltallene som inngår er ikke-omløpsprosent etter 56 dager (IO56), tid fra kalving til første inseminering (KFI), tid fra kalving til siste

inseminering (KSI), antall utsjaltninger pga. dårlig fruktbarhet (AU), antall insemineringer utført i gjennomsnitt pr ku/kvige (AIPP) og antall inseminerte dyr (AI) (Refsdal et al., 2014b).

FS-tallet regnes ut etter formelen: 
$$\frac{IO56 - (KSI - 125) \times (AI - AU)}{AI}$$

Ut ifra formelen kommer det frem at særlig IO56 og KSI spiller en stor rolle for en besetnings samlede fruktbarhet. Det kan derfor argumenteres for at fokus på styring av særlig disse faktorene, vil gi stort utslag på FS-tallet i positiv forstand. Det er også verdt å nevne at i mindre besetninger vil noen få enkeltindivider med dårlig fruktbarhet, ha stor negativ påvirkning på FS-tallet.

### **Ikke-omløpsprosent vs. drektighetsprosent**

Ikke-omløpsprosent (IO%) angir prosentvis andel dyr som er inseminert kun én gang, og som ikke har vist ny brunst og blitt inseminert på nytt innen en viss tid (Refsdal et al., 2014b).

Hvis ingen dyr er inseminert på nytt, er IO% 100. For å få en helhetlig oversikt over drektighetsstatus i en besetning, ser man på IO% etter et visst antall dager etter første inseminering. Det kan være flere årsaker til at IO% avviker fra drektighetsprosent. Individuer som løper om etter første inseminering, men som utrangeres uten å bli inseminert på nytt, vil føre til at IO% avviker. Det samme vil individer som pares naturlig ved omløp, uten at paringen innrapporteres i DHP. I praksis er ikke IO% et nøyaktig mål på hvor mange dyr som er drektige, men målet gir likevel en god indikator på drektighetsprosenten i besetningen.

Drektighetsprosent (Dr%) angir andel dyr hvor inseminasjonen har resultert i drektighet. Hvis alle inseminerte individer drektighetsundersøkes og resultatene innrapporteres, vil man da ha oversikten over den faktiske fruktbarheten i besetningen. I mange besetninger blir det praktisk

vanskelig å drektighetsundersøke alle inseminerte dyr, og disse har mer nytte av å bruke IO% som mål på fruktbarhet. I besetninger hvor systematisk drektighetsundersøkelse av alle individer kan gjennomføres, vil drektighetsprosent naturligvis være det mest nøyaktige målet, men det krever at man har full kontroll over alle inseminasjoner og drektighetsundersøkelser. Undersøkelser utført på NRF 6 uker etter en inseminering har vist at ca. 70 % av kviger og ca. 60 % av kyr reelt er drektige. Dette er 10–12 % lavere enn ikke- omløpsprosenten på kyr. Hos kviger er ikke-omløpsprosenten 5–6 % lavere enn drektighetsprosenten (Refsdal et al., 2014a).

## **Formål**

Hovedformålet med oppgaven er å undersøke om det er sammenheng mellom cervikal deponering og ikke-omløpsprosent hos norske kviger ved 56 dager. Vår nullhypotese blir da at deponeringssted har ingen betydning for ikke-omløpsprosent.

Et underordnet mål er å undersøke om deponeringsproblemer ved inseminering av kviger i Norge har sammenheng med vanskelig anatomi i cervix.

# Materiale og metode

## Studiedesign

Denne fordypningsoppgaven er en observasjonsstudie på norske kviger som har blitt inseminert og innrapportert via Dyrehelseportalen.

Studieenheten er en inseminering og studiepopulasjonen blir 1. gangsinseminasjoner på norske kviger inseminert i perioden 01.08.2019–30.07.2022. Inklusjons- og eksklusjonskriterier for studien er som følger:

Inklusjonskriterier:

- Inseminasjoner gjort på norske kviger via Geno i perioden 01.08.2019–30.07.2022, med kode 58 (trang cervix), kode 59 (vinklet cervix) eller ingen kode.

Eksklusjonskriterier:

- Inseminasjoner gjort samme dag som 1. gangsinseminasjonen.
- Dobbeltinseminasjoner innen 5 dager fra første.
- Inseminasjoner gjort etter dag 56 innen 1. gangsinseminasjonen.
- Inseminasjoner som ikke var 1. gangsinseminasjoner.
- Inseminasjoner gjort utenfor perioden 01.08.2019–30.07.2022.

Observasjonene vi gjør på studiepopulasjonen er om de blir inseminert på nytt innen 56 dager etter 1. gangsinseminasjon. Utfallsvariablene i denne studien blir derfor omløp eller ikke-omløp. Forklaringsvariablene til utfallsvariablene blir deponeringssted/kode.

## **Datainnsamling**

Datagrunnlaget i denne fordypningsoppgaven er hentet ut fra Geno SAs database. Det er Geno SA som har samlet inn opplysninger fra veterinærer og inseminører som er rapportert inn via DHP. Datainnsamlingen gikk fra 01.08.2019 til 01.08.2022.

I forbindelse med dette forsøket ble det lagt til en funksjon i DHP hvor veterinærer og inseminører kunne legge til forsøkskode. Kode 58 skulle brukes når sæddosen ble deponert i cervix grunnet trang cervix og kode 59 når det var bøyd/vinklet cervix. Hensikten med denne datainnsamlingen var å undersøke hvor ofte kviger insemineres med deponering i cervix som følge av vanskelig anatomi, undersøke ikke-omløpsprosent ved deponering i cervix hos kviger og undersøke om det er genetiske forhold som kan disponere for den anatomiske utformingen av cervix (Geno, 2020e).

## **Statistikk**

Forklaringsvariabel og utfallsvariabel er begge binære, så vi ønsker å bruke signifikanstesting (kji-kvadrattest) for å teste sammenhengen mellom de to variablene. Deretter vil bruk av krysstabell være den mest hensiktsmessige metoden for å kunne si noe om styrken på en evt. assosiasjon (sammenligne kode mot ikke-kode ift. ikke-omløpsprosent).

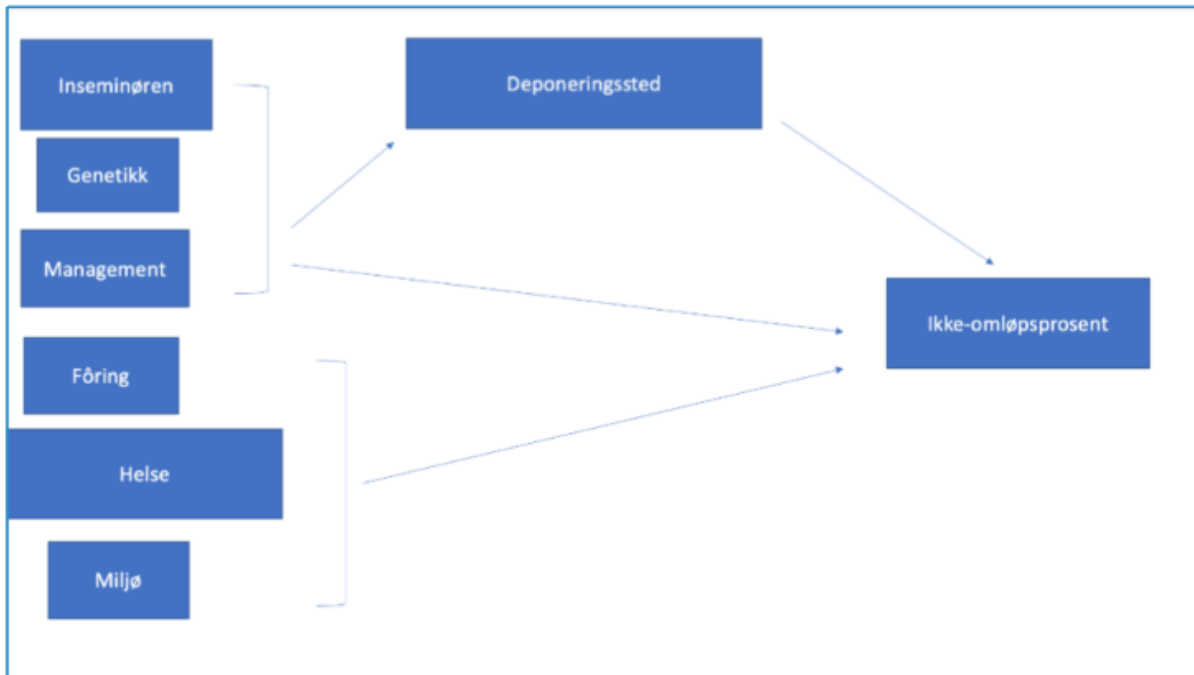
For å oppnå formålet med denne oppgaven brukes det enkel prosentregning med ikke-omløpsandelen delt på totalt antall. Dette vil vise den biologiske signifikansen og betydningen av intrauterin deponering sammenlignet med cervikal deponering.

Første del i signifikanstesting blir å sette en nullhypotese  $N_0$ . I dette forsøket blir  $N_0$ : deponeringssted har ingen betydning for ikke-omløpsprosent. Videre settes signifikansnivå  $\alpha$  til standard 0,05. Dette blir da grenseverdien for å forkaste nullhypotesen, altså forkaster vi nullhypotesen dersom observert sannsynlighet (p-verdien) er mindre enn 0,05. Det vil si at vi aksepterer maksimalt 5 % sannsynlighet for at sammenhengen mellom deponeringssted og ikke-omløp skyldes tilfeldigheter (Larsen & Marx, 1990).

For å finne den statistiske signifikansen til våre ikke-omløpsdata, benytter vi kji-kvadrattesten på en 2x2-tabell med deponeringssted intraturerint og cervikalt kryssa med omløp og ikke-omløp. Kji-kvadrattesten benyttes når vi har nominale data i to eller flere grupper og hvor utvalgene er uavhengige. Resultatet her ( $\chi^2$  eller kji-kvadrat) kan vi bruke til å finne p-verdien til korrelasjonen mellom deponeringssted og ikke-omløp. Dersom p-verdien er mindre enn 0,05, forkastes nullhypotesen og resultatet er statistisk signifikant (Larsen & Marx, 1990).

Vi velger å slå sammen deponering i cervix på grunn av trangt og bøyd/vinklet cervix siden resultatet er det samme, men årsaken er noe forskjellig. Vi velger også å legge mest vekt på gruppen der dobbeltinsemineringene er ekskludert. Da blir det en 2x2-tabell med deponeringssted intraturerint og cervikalt kryssa med omløp og ikke-omløp.

## Kausaldiagram



Figur 10: Kausaldiagram over årsaker som påvirker ikke- omløpsprosent.



## Resultater

Resultatet av studien viser en 20,88 % (ekskludert dobbeltinsemineringer) og 21,85 % (inkludert dobbeltinsemineringer) lavere ikke-omløpsprosent ved deponering i cervix enn intrauterin deponering. De statistiske analysene (kji-kvadrattest) viser en sterkt signifikant sammenheng mellom deponeringsted og ikke-omløpsprosent.

Det ble registrert totalt 365.838 inseminasjoner på kviger i den perioden, herav 1129 stk. med kode 58 (trang) og 318 stk. med kode 59 (bøyd/vinklet).

For å registrere ikke-omløpsstatistikken, må vi ha antall førstegangsinsesminasjoner i denne perioden. Tabell 5 viser antall registreringer samt ekskluderinger.

*Tabell 5: Oversikt over resultatene av datainnsamlingen og hvor mange inseminasjoner som ble tatt vekk for hvert eksklusjonskriterium.*

Totalt antall registeret insemineringer på kviger i perioden	365.838
Tatt vekk ins. samme dag	137
Tatt vekk ins. 1.08.2022	179
Tatt vekk dobbeltins. <5 dager	21.336
Tatt vekk ins. etter 56 dager etter første	28.758
Tatt vekk ins. som ikke var 1. gangsinseminasjoner	82.565
Beholdt kun 1. gangs inseminasjoner på kviger i den perioden	<b>232.863</b>

Datagrunnlaget blir 232.863 registreringer etter å ha ekskludert inseminasjonene som faller innunder eksklusjonskriteriene. Dette tilsvarer antall 1. gangsinseminasjoner. Disse tallene brukes til å regne ut ikke-omløpsprosent og videre statistiske analyser.

Tabell 6: Antall nye inseminasjoner før dag 56 inkludert og ekskludert dobbeltinseminasjoner.

<b>232.863</b>	<b>1. gangsinseminasjoner</b>
Av disse har:	
70.796	Ny inseminering før 56 dager, inkludert dobbeltinsemineringer
60.402	Ny inseminering før 56 dager, ekskludert dobbeltinsemineringer
13.544	Dobbeltinsemineringer/trippelinsemineringer

Tabell 6 viser antall kviger som hadde omløp før dag 56 inkludert og ekskludert dobbeltinseminasjoner. Dette blir tallgrunnlaget for å regne ikke-omløpsprosent videre i tabell 10 og 11.

**Total forekomst av koder**

Tabell 7: Total forekomst av koder.

Total forekomst av koder		
KODE	Frekvens	Prosent
Intrauterint	364.391	99,60
Trang (kode 58)	1.129	0,31
Vinklet (kode 59)	318	0,09
<b>Total</b>	<b>365.838</b>	<b>100,00</b>

Tabell 8: Forekomst av koder på 1. gangsins.

Koder ved førstegangs-inseminasjon		
KODE	Frekvens	Prosent
Intrauterint	232.060	99,66
Trang (kode 58)	645	0,28
Vinklet (kode 59)	158	0,07
<b>Total</b>	<b>232.863</b>	<b>100,00</b>

Vi ser ut ifra tabell 7 og 8 at det er meldt inn betydelig flere inseminasjoner med trangt cervix (kode 58) enn med vinklet cervix (kode 59).

Tabell 9: Antall ganger kode forkommer på enkeltindivider.

Antall ganger kode forekommer hos hver enkelt kvige		
Antall	Frekvens	Prosent
0	231.691	99,50
1	1.111	0,48
2	57	0,02
3	4	0,00
<b>Total</b>	<b>232.863</b>	<b>100,00</b>

Tabell 9 viser at de aller fleste kvigene som blir inseminert med kode førsteinseminasjon, blir inseminert uten kode ved neste inseminasjon.

## Ikke-omløpsstatistikk

0 = ikke omløp, 1 = omløp

Tabell 10: Ikke-omløpsstatistikk ekskludert dobbeltinseminasjoner. 0 = ikke-omløp 1 = omløp.

Uten dobbeltinsemineringer					
dep. Sted	0	1	Total	Ikke-omløp %	
intrauterin	172034	60026	232060	74,13 %	
dep.cervix trang	335	310	645	51,94 %	
dep.cervix vinklet	92	66	158	58,23 %	
Total	172,461	60,402	232,863	74,06 %	
dep. sted	0	1	Total	Ikke- omløp %	
intrauterin	172,034	60,026	232,06	74,13 %	
cervix	427	376	803	53,18 %	
Total	172,461	60,402	232,863	74,06 %	

Tabell 11: Ikke-omløpsstatistikk inkludert dobbeltinseminasjoner. 0 = ikke-omløp 1 = omløp.

Inkludert dobbeltinsemineringer					
dep. Sted	0	1	Total	Ikke-omløp %	
intrauterin	161,683	70,377	232,06	69,67 %	
dep.cervix trang	304	341	645	47,13 %	
dep.cervix vinklet	80	78	158	50,63 %	
Total	162,067	70,796	232,863	69,60 %	
dep. sted	0	1	Total	Ikke-omløp %	
intrauterin	161,683	70,377	232,06	69,67 %	
cervix	384	419	803	47,82 %	
Total	162,067	70,796	232,863	69,60 %	

**Fordeling av antall inseminasjoner per måned og andelen med kode**

I tabell 12 er det trukket ifra inseminasjoner gjort på samme dyr, på samme dag og inseminasjoner gjort 01.08.2022. Totalt 365.522 inseminasjoner.

Tabell 12: Oversikt over forekomst av koder måned for måned.

Måned	År	Antall ins.	Andel m/kode		År	Antall ins.	Andel m/kode
8	2019	4793	0,0112664	1	2021	14119	0,0042496
9	2019	5745	0,0078329	2	2021	10731	0,002982
10	2019	9264	0,0090674	3	2021	10751	0,0028835
11	2019	13438	0,0049114	4	2021	11230	0,0028495
12	2019	17420	0,0043628	5	2021	11015	0,0033591
1	2020	14920	0,0063003	6	2021	8104	0,0030849
2	2020	11821	0,0072752	7	2021	5331	0,002251
3	2020	11026	0,0048975	8	2021	5040	0,002381
4	2020	12171	0,0050119	9	2021	5554	0,0014404
5	2020	12315	0,0098254	10	2021	8712	0,0022957
6	2020	8412	0,0065383	11	2021	12584	0,0026224
7	2020	6177	0,0061519	12	2021	16122	0,0011165
8	2020	5402	0,0038874	1	2022	13629	0,0019811
9	2020	5935	0,0028644	2	2022	10161	0,0014762
10	2020	8995	0,0042246	3	2022	9574	0,0018801
11	2020	13562	0,0023595	4	2022	10349	0,0016427
12	2020	16976	0,0037111	5	2022	10904	0,0018342
				6	2022	7735	0,0019392
				7	2022	5505	0,0016349

## Analyse

Kji-kvadrattest på intrauterin og cervikal deponering krysset med ikke-omløp (0) og omløp (1).

Tabell 13: Kji-kvadrattest ekskludert dobbeltinseminasjoner.

	0	1	Marginal Row Totals
Intrauterin	172034 (171866.29) [0.16]	60026 (60193.71) [0.47]	232060
Cervix	427 (594.71) [47.3]	376 (208.29) [135.04]	803
Marginal Column Totals	172461	60402	232863 (Grand Total)

I denne studien blir  $\chi^2$  (kjikvadrat) = 182,9643. Det gir en p-verdi på  $< 0,00001$ , og er dermed innenfor vårt signifikansnivå på 0,05 og resultatet er statistisk signifikant.

Videre utfører vi en kji-kvadrattest i en 3x2-tabell hvor vi tar trang og bøyd cervix hver for seg ekskludert dobbeltinsemineringer.

Tabell 14: Kji-kvadrattest på 3x2-tabell ekskludert dobbeltinsemineringer.

	Results				Row Totals
	0	1			
Intrauterin	172034 (171866.29) [0.16]	60026 (60193.71) [0.47]			232060
Trang Cervix	335 (477.69) [42.62]	310 (167.31) [121.70]			645
Bøyd Cervix	92 (117.02) [5.35]	66 (40.98) [15.27]			158
Column Totals	172461	60402			232863 (Grand Total)

Resultatet hvor trang og bøyd cervix er satt inn hver for seg i kji-kvadrattest blir  $\chi^2 = 185,5779$  og p-verdi på  $< 0,00001$ . Dette gir også et statistisk signifikant resultat innenfor signifikansnivået på 0,05.

Kji-kvadrattest inkludert dobbeltinsemineringene på 2x2-tabellen er vist under.

Tabell 15: Kji-kvadrattest på 2x2 tabell inkludert dobbeltinsemineringer.

	0	1	<i>Marginal Row Totals</i>
<b>Intrauterin</b>	161683 (161508.13) [0.19]	70377 (70551.87) [0.43]	232060
<b>Cervix</b>	384 (558.87) [54.72]	419 (244.13) [125.26]	803
<b>Marginal Column Totals</b>	162067	70796	232863 (Grand Total)

Resultatet er  $\chi^2 = 180,595$ . Det gir p-verdi på  $< 0,00001$ . Dette gir et signifikant resultat innenfor signifikansnivået vårt på 0,05.

Kji-kvadrat inkludert dobbeltinseminering i en 3x2-tabell:

Tabell 16: Kji-kvadrattest på 3x2-tabell inkludert dobbeltinseminasjon.

Results						
	0	1				<b>Row Totals</b>
Intrauterin	161683 (161510.91) [0.18]	70377 (70549.09) [0.42]				232060
Trang Cervix	304 (448.91) [46.78]	341 (196.09) [107.09]				645
Bøyd Cervix	80 (107.18) [6.89]	74 (46.82) [15.78]				154
<b>Column Totals</b>	162067	70792				<b>232859 (Grand Total)</b>

$\chi^2 = 177,1494$ . Det gir p-verdi på  $< 0,00001$ . Dette er et signifikant resultat innenfor signifikansnivået vårt på 0,05.

Vi kan si ut ifra kji-kvadrattestene at det er en statistisk signifikant sammenheng mellom deponeringssted og omløp, uavhengig av om vi inkluderer dobbeltinseminering og slår sammen trang og bøyd/vinklet cervix eller ei. Dermed kan vi forkaste nullhypotesen.

## Diskusjon

Denne observasjonsstudien ser på sammenhengen mellom deponeringssted og ikke-omløpsprosent blant norske kviger over en treårsperiode. Resultatene våre viser at deponering i cervix gav 20,96 % (inkludert dobbeltinsemineringer) og 21,85 % (ekskludert dobbeltinsemineringer) lavere ikke-omløpsprosent enn ved deponering i uterus. Dette er en biologisk signifikant forskjell. Det er også en svært sterk statistisk sammenheng mellom deponeringssted (kode eller ikke-kode) og ikke-omløpsprosent. Dermed kan vi si at kviger som blir inseminert i cervix med kode, har litt over 20 % høyere sannsynlighet for omløp.

Datagrunnlaget for denne oppgaven ble samlet inn av Geno AS og var en av grunnene til igangsettelse av prosjektet med forsøkskoder i innrapporteringen i DHP. En annen grunn til at Geno ønsket å samle inn data på kviger med trangt og bøyd cervix, var at de hadde fått mange tilbakemeldinger fra inseminører om kviger med vanskelig utforming på cervix som føltes umulig å komme igjennom. Det ble mistanke om mulige arvelige anatomiske defekter i cervix hos enkelte linjer av NRF-kviger. Dette var viktig for Geno å skaffe seg oversikt over denne potensielle problemstillingen.

Ut ifra fra tabell 9 kommer vi fram til at 5,1 % av kvigene inseminert med kode første gang er inseminert med kode på nytt ved neste inseminasjon. Det vil si at de aller fleste har en tilsynelatende normal cervix ved neste inseminasjon. Dermed er det grunnlag for å hevde at hovedgrunnen for inseminasjon med kode er feil insemineringstidspunkt og ikke reelle anatomiske forhold. En reell anatomisk abnormalitet som en bøyd cervix, vil vi forvente ikke



forandrer seg fra brunst til brunst. Dette utgjør en ubetydelig andel da det er kun 4 individer (0,0017 %) som er inseminert med kode tre ganger på rad.

## **Ferdig innsamlede data**

Grunnlaget for datainnsamlingen er gjort gjennom vanlig rutinearbeid, der det er notert abnormaliteter ved inseminering. Dette er gjort av veterinærer og seminteknikere. Vi har fått inn et bredt datagrunnlag, over 360.000 innrapporterte insemineringer på kviger, gjennom Geno sitt rapporteringssystem i DHP, over en treårsperiode. Dette utgjør hovedandelen av alt seminarbeid gjort i Norge i den perioden. Det å ha et så bredt materiale, gir et representativt utvalg for Norges kvigepopulasjon, med høy intern og ekstern validitet.

Ulempen med å få ferdig innsamlede data er at det er gjort et utvalg på forhånd med selekterte data, slik at man mister oversikten over hva som er gjort og ikke gjort med den opprinnelige dataregistreringen. Vi har kun fått informasjon om ikke-omløpsdata, og vet ikke reell drektighetsprosent. Det kan derfor ikke ut ifra vårt datagrunnlag fastslås om det er noen eksakt forskjell i andelen som ble drektige i de forskjellige gruppene: deponering i cervix eller intrauterint.

## **Stort datagrunnlag**

Fordelen med et stort ferdig samlet datagrunnlag er at det gir muligheten til å gjøre sterke statistiske analyser, i tillegg til at det er arbeidsbesparende. Ulempen er at man kunne sett på flere faktorer hvis man hadde hatt tilgang til hele datagrunnlaget. Et eksempel på det er å se

på hvor mange innrapporteringer den enkelte semintekniker/veterinær har, og sett hvor mange som f.eks. har null innrapporterte koder. Dette kunne vært gjort for å ha en indikasjon på hvor representativ andelen innmeldt med kode faktisk er.

## **Feilkilder**

Én stor feilkilde i dette datasettet er at innmeldingen av koder er frivillig basert på den enkelte inseminør. Det er sannsynlig at en betydelig andel av inseminørene har glemt dette med innmelding av koder fullstendig eller periodevis. Vi har ikke informasjon om når påminnelser er sendt ut gjennom denne treårsperioden, utenom november 2020 (Geno, 2020). Det er rimelig å anta at påminnelser vil gi periodevis høyere andel innrapporteringer ift. resten av året.

Ut ifra tabell 12 kan vi se hvordan andelen insemineringer med kode utvikler seg fra måned til måned. Da påminnelse ble sendt ut i slutten av november 2020, gav det en økning i rapporteringer med koder på 63 % fra november til desember 2020. Fra desember 2020 til januar 2021 gav det en økning med ytterligere 13 %. Den totale økningen på disse to månedene var på 80 %. Dette tilsvarer 30 flere inseminasjoner meldt inn med kode per måned. Det er verdt å nevne at det er i den første måneden av forsøket, august 2019, at det er flest insemineringer innmeldt med kode (1,1 %). Bare tre måneder senere har andelen med kode falt til 0,49 %.

De inseminørene som ikke melder inn koder i det hele tatt, vil sannsynligvis ha deponert i cervix ved noen tilfeller. Dermed vil disse cervikale deponeringene gå inn i datagrunnlaget som intrauterin deponering. Dette vil redusere differansen mellom IO% ved cervikal og intrauterin deponering siden de med cervikal deponering har lavere sannsynlighet for drektighet.

Motivasjonen til inseminør for å bruke kode kan være varierende, men primært fordi individet var vanskelig å inseminere. Det kan være at uterus eller cervix har ligget vanskelig til i bekkenet, eller at inseminatoren har stanget i en fold i skjeden. Kode 58 og 59 kan ha vært brukt fordi inseminøren synes inseminasjonen var dårlig teknisk gjennomført og melder inn koder som «unnskyldning» for dårlig inseminasjon. Dermed kan det stilles spørsmål ved kausaliteten, altså om det er deponering i cervix som fører til økt omløp eller dårlig inseminasjonsteknikk som fører til kode.

Forskjell i seminteknikk er av liten betydning i denne sammenhengen, fordi alle landets seminteknikere, i tillegg til veterinærer som inseminerer, inngår i datagrunnlaget. Dermed vil datagrunnlaget representere et gjennomsnitt av alle disse, slik at det er forholdene hos kvigene som blir den avgjørende forklaringsvariabelen om det blir kode eller ikke.

Innmelding av kode er en subjektiv vurdering gjort av den enkelte inseminøren, med relativt liten presisering i hva som inngår i kodebruken. Kode 58 skal tas i bruk ved deponering i cervix pga. trang cervix, og kode 59 ved deponering i bøyd/vinklet cervix (Geno, 2020). Dette

er ikke gjennomgått systematisk på insemineringskurs, og det er rom for tolkning. Siden alle landets inseminører inngår i datagrunnlaget, vil det representere et gjennomsnitt.

Vi ser en tydelig variasjon i andelen som insemineres med kode, og den påvirkes betydelig etter påminnelser. Det er mer sannsynlig at variasjon i andelen koder skyldes hvor fokusert inseminøren er på å melde inn koder, enn reell variasjon av andelen kviger med trang/bøyd cervix. Det er lite sannsynlig at de anatomiske forholdene forandrer seg fra måned til måned.

Typer sæd kan ha en mulig innvirkning på ikke-omløpsprosenten. Kjønnseparert sæd har under halvparten vitale spermier sammenliknet med en konvensjonell dose. Dette fører til at insemineringsvinduet blir smalere. Kjønnseparert sæd har en lavere ikke-omløpsprosent ift. konvensjonell sæd. Dermed er anbefalingen fra Geno å kun bruke kjønnseparert hos de med god brunst og fruktbarhet, og helst kviger (Geno, 2023d). Fra datasettet har vi ikke fått opplyst hva de er inseminert med, men i hht. anbefalingene fra Geno er det rimelig å anta at andelen insemineringer med kjønnseparert sæd er ubetydelig i denne sammenheng. I stedet er heller feil insemineringstidspunkt grunnet dårlig brunstdeteksjon, en sannsynlig hovedårsak til inseminasjon med kode.

## **Bias**

Datainnsamlingen er gått over tre hele kalenderår, dermed vil eventuelle sesongvariasjoner utjevne hverandre. Det vil være en del driftsvariasjoner, f.eks. konsentrerte kalvinger vil gi forskjeller i antall insemineringer fra måned til måned. Fra datasettet vårt er det færrest

insemineringer i august måned, og flest i november til januar. Perioden med flest inseminasjoner per måned sammenfaller med perioden med dårligst dagslys. Dette kan påvirke brunst og brunstadferd negativt, dermed ville vi forventet å se en enda høyere andel innmeldte koder grunnet større sannsynlighet for midtsyklus-insemineringer. Den tendensen kan vi ikke se i datasettet.

Vi har et stort tallgrunnlag tilgjengelig, og dermed er faren for tilfeldige feil liten, men systematiske feil større.

Det som kan gi bias i vårt datagrunnlag er hvis det er mange inseminører som har latt være å melde inn koder i det hele tatt. Dermed vil vi få en skjevfordeling med lavere andel koder enn det som ville vært reelt. Dette vil jevnes litt ut av de som bruker innmelding av koder som «unnskyldning» for dårlig seminteknikk. Det anses som sannsynlig at det er høyere antall innrapporteringer med koder for de med et lavt antall insemineringer, versus erfarne seminteknikere med mange seminoppdrag i året. En erfaren inseminør har høyere sannsynlighet for å komme gjennom cervix, uavhengig av om cervix er trang eller bøyd. En erfaren vil kunne deponere flere kviger med trang/bøyd cervix intrauterint, og vil få et lavere antall rapporteringer med kode.

IO56 ligger på 74,13 % hos de med intrauterin deponering og 53,18 % for cervikal deponering. Da er ikke dobbeltinsemineringer regnet med. Det vil være noen dyr som ble drektige ved første inseminering, men som grunnet kraftig follikkelbølge kan ha blitt inseminert på nytt. Dette kan senke IO% i forhold til den reelle drektighetsprosenten.

For kviger som blir inseminert og ikke blir drektige, og der ny brunst ikke oppdages, vil denne brunsten ikke bli regnet som et omløp. Dette vil være med å øke IO% i forhold til reell Dr%, det samme vil gjelde for dyr som blir utrangert eller dør før de blir inseminert på nytt. Disse to feilkildene vil trekke IO% i forhold til Dr% i hver sin retning siden vi ikke vet noen Dr%, og da kan vi ikke si hvem av de som har størst betydning.

## **Kausalitet**

Kausaliteten mellom inseminering med kode og omløp er betydelig. Vi ser at 20,96 % (uten dobbeltinseminering) og 21,85 % (inkludert dobbeltinseminering) har lavere ikke-omløpsprosent med kode enn uten kode. Med den sterke statistiske signifikansen er det sikkert at insemineringer med kode fører til økt sannsynlighet for omløp.

Hva som er årsaken til bruk av kode er noe mer usikkert. Det vi ser på som mest aktuelt med denne studien er vanskelig anatomi i cervix hos kviger, dårlig inseminasjonsteknikk eller feil inseminasjonstidspunkt som fører til kode. Alle disse tre kan være underliggende årsaker til mer omløp. Av disse tre er nok feil insemineringstidspunkt den viktigste. Tabell 9 (antall inseminasjoner på hver enkelt kvige) viser at 95 % av kviger inseminert med kode første gang, blir inseminert uten kode ved neste inseminasjon. Dette tyder sterkt på at feil inseminasjonstidspunkt er hovedårsak til bruk av kode. Hadde det vært vanskelig anatomi ville vi forventet flere individuelle kviger som ble inseminert med kode flere ganger.

## **Validitet**

Den ytre validiteten for resultatene i denne studien er meget sterk siden vi har observert majoriteten av kvigepopulasjonen i Norge over tre år. Når nesten hele populasjonen er tatt med i studien, blir den ytre validiteten meget sterk. Hvis vi utvider populasjonen til å gjelde for norske kyr, blir validiteten noe svakere, men fremdeles sterk. Det er noe ulike forhold i cervix hos kyr versus kviger. Kyr har generelt litt større cervix etter at de har gjennomgått tidligere drektighet og fødsel. Utvider vi populasjonen slik at resultatene skal gjelde for utenlandske kviger også, vil validiteten gå ned ytterligere. Dette skyldes at det er andre raser, driftsformer, rutiner for brunstdeteksjon og inseminasjon.

Den interne validiteten vil være sterk dersom vi ser på deponering i cervix med kode som forklaringsvariabel til mer omløp som utfallsvariabel. Det som kan være med å svekke den interne validiteten er hva som er årsaken til bruk av kode. Det ble ikke gitt noen veldig spesifikke definisjoner på når kodene skulle brukes og det er den subjektive oppfattelsen av hver enkelt inseminasjon hos hver enkelt inseminør, som avgjør om det blir brukt kode eller ikke. Konsekvensen av systematiske feil i bruk av koder hos inseminørene er vanskelig å si noe konkret om.

## **Sammenligning med annen litteratur**

I 1951 publiserte Salisbury et al. en artikkel som sammenfattet tre studier gjort på sammenhengen mellom deponeringssted og drektighetsresultat hos Holstein. Det ble da ikke funnet en signifikant forskjell i ikke-omløpsprosent mellom dyp uterin, uterin og cervical deponering (Salisbury & Vandemark, 1951). Under norske forhold har så langt ingen slike studier på storfe blitt utført.

I 1988 gjorde B. L. Williams et al. en studie på deponeringssted og Dr% ved inseminering av Holstein og Jersey. Dette var et arbeid som foregikk over en treårsperiode hvor det ble samlet inn data fra 2127 individer. Studien hadde som formål å inseminere intrauterint og intracornuallt, men en del ble inseminert i cervix fordi inseminøren ikke kom gjennom cervix, og er dermed ganske analog til vår studie. De fant at Dr% var nesten 10 % lavere ved deponering i cervix (39,4 %) enn ved deponering i uterus (48,1 %). Det var best resultat ved grunn inseminering intracornuallt (2,5 cm inn i børhorn), hvor halvparten av sæddosen deponeres i hvert horn (49,3 %) (Williams et al., 1988). Til sammenligning med vår studie er det nesten 20 % forskjell på ikke-omløp ved deponering i cervix i forhold til uterus. Registreringene i vår studie inneholder ikke registreringer om Dr%. Likevel, resultatene til B. L. Williams et al. og vår studie stemmer overens med den «etablerte sannheten» i veterinærmiljøet om at deponering i cervix gir lavere sannsynlighet for drektighet enn deponering intraturerint.



## Konklusjon

Denne studien var en observasjonsstudie basert på en frivillig innrapportering av rutinemessig inseminering. Dette har ført til et stort datagrunnlag, basert på subjektive oppfattelser hos et stort antall inseminører. Datagrunnlaget er på over 360.000 insemineringer over en treårsperiode som gjør at sesongvariasjoner, alle norske driftsformer og inseminører er representert i datagrunnlaget. Det store datagrunnlaget gir også sterke statistiske analyser.

Resultatet i denne studien underbygger at det er både en biologisk og statistisk signifikant sammenheng mellom deponering i cervix og ikke-omløpsprosent. De kvigene som blir inseminert i cervix, har litt over 20 % høyere sannsynlighet for omløp enn de som insemineres uten kode. Det tyder på at feil insemineringstidspunkt på den aktuelle brunsten er hovedårsak til bruk av kode, da det er tilnærmet ingen enkeltindivider som blir inseminert med kode mer enn én gang.

Den betydelige svingningen i andel inseminasjoner meldt inn med kode fra måned til måned, indikerer at det har vært et variabelt fokus på å melde inn koder når det deponeres i cervix. Resultatene i denne studien, stemmer overens med andre studier som sammenligner IO%/Dr% ved deponeringer i cervix versus intrauterint.

## **Takk til bidragsytere**

Vi vil takke Anette K. Krogenæs som på kort frist kunne steppe inn som veileder og gi oss god hjelp og rådgivning med oppgaven. Takk til Ane C. W. Nødtvedt for veldig god hjelp i statistikkbiten, og Ingrid H. Holmøy for å ha samlet inn og sortert datamaterialet vi fikk levert av Geno. Tusen takk!

## Summary

*Title:* Artificial insemination in Norwegian heifers – An observational study on deposition-site and non-return rate

*Authors:* Toralf Espe Kolås, Anders Brøten Lillemoe and Anita Lundby

*Supervisor:* Anette K. Krogenæs and Ane C. W. Nødtvedt, Department of Production Animal Clinical Sciences

In this thesis we wanted to do an observational study to investigate whether the deposition-site during insemination influences the non-return rates in Norwegian heifers. Through a project by Geno, inseminators have reported codes when they had to inseminate in the cervix. Code 58 was used for narrow cervix, and code 59 for bent/angled cervix. After picking out the data that met exclusion- and inclusion criteria for the study, the dataset consisted of 232 863 registrations of first-time inseminations done in the period 01.08.2019–30.07.2022. We used chi-square tests to look at the relationship between the binary variables deposition place and non-return rate.

The results from the statistical analysis showed a statistically significant relationship between non-return rate and deposition site at 0.05 significance level. The non-return rate at 56 days was 53,18% for heifers inseminated with code, and 74,13% for heifers inseminated without a code. In this study, both a statistically and a biologically significant relationship between deposition-site and non-return rate in Norwegian heifers, was established.

## Referanser

- Blondin, P., C.Vigneault, A.L.Nivet & Sirard, M. A. (2012). Improving oocyte quality in cows and heifers - What have we learned so far? *Animal Reproduction*, Vol. 9, (3): 281-289.
- Borş, S. I. & Borş, A. (2020). Ovarian cysts, an anovulatory condition in dairy cattle. *J Vet Med Sci*, 82 (10): 1515-1522. doi: 10.1292/jvms.20-0381.
- Brooks, K., Burns, G. & Spencer, T. E. (2014). Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5 (1): 53. doi: 10.1186/2049-1891-5-53.
- Cortes, C. (u.å.). *Physiology and anatomy of reproduction* Tilgjengelig fra: [https://www.groupe-esa.com/ladmec/bricks\\_modules/brick03/co/web\\_brick03.html](https://www.groupe-esa.com/ladmec/bricks_modules/brick03/co/web_brick03.html) (lest 12.09.23).
- Diaz-Lundahl, S., Heringstad, B., Garmo, R. T., Gillund, P. & Krogenæs, A. K. (2022). Heritability of subclinical endometritis in Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, 105 (7): 5946-5953. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21752>.
- Diaz-Lundahl, S., Sundaram, A. Y. M., Gillund, P., Gilfillan, G. D., Olsaker, I. & Krogenæs, A. (2022). Gene Expression in Embryos From Norwegian Red Bulls With High or Low Non Return Rate: An RNA-Seq Study of in vivo-Produced Single Embryos. *Frontier in Genetics*, 12. doi: 10.3389/fgene.2021.780113.
- Dirandeh, E., Ansari-Pirsaraei, Z. & Thatcher, W. (2022). Melatonin as a Smart Protector of Pregnancy in Dairy Cows. *Antioxidants (Basel)*, 11 (2). doi: 10.3390/antiox11020292.
- Diskin, M. G., Mackey, D. R., Roche, J. F. & Sreenan, J. M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci*, 78 (3-4): 345-70. doi: 10.1016/s0378-4320(03)00099-x.

Duby, D. R. W. P. a. D. R. T. (2007). *Anatomy of the cow's reproductive tract* Massachusetts: West Virginia University Extension Service. Tilgjengelig fra:

<https://www.thecattlesite.com/articles/1031/anatomy-of-the-cows-reproductive-tract/> (lest 11.09.23).

DuPonte, M. W. (2007). *The basics of heat (estrus) detection in cattle*: Cooperative extension service Tilgjengelig fra:

<https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/server/api/core/bitstreams/49c73384-52db-4ee1-9534-2dd9690ec6a8/content> (lest 30.09.2023).

Geno. *Historien om Geno og NRF*. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/om-genom-norsk-rodt-fe/historien-om-genom-nrf/> (lest 10.10.2023).

Geno. (2020a). *Brunsttegn*: Geno. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/fagstoff-og-hjelpemidler/fagstoff/brunst-og-fruktbarhet/brunst-og-brunstkontroll/brunsttegn/> (lest 23.02.23).

Geno. (2020b). *Fruktbarhetsmål*. Geno: Geno. Tilgjengelig fra:

<https://www.geno.no/fagstoff-og-hjelpemidler/fagstoff/brunst-og-fruktbarhet/fruktbarhet-og-fruktbarhetsproblemer/fruktbarhet/fruktbarhetsmal/> (lest 01.10.2023).

Geno. (2020c). *Historien om Geno og NRF*. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/om-genom-norsk-rodt-fe/historien-om-genom-nrf/> (lest 04.04.2023).

Geno. (2020d). *Produksjon av sæd*. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/fagstoff-og-hjelpemidler/produksjon-av-sad/> (lest 12.10.2023).

Geno. (2020e). *Påminnelse om registrering av trang og vinklet cervix - registrering i DHP*:

Geno Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/for-inseminorer/nytt-for-veterinarer-seminteknikere/paminnelse-om-registrering-av-trang-og-vinklet-cervix---registrering-i-dhp/#:~:text=Koder%20for%20registrering&text=58%20%E2%80%93%20Deponering%20i%20cervix%20pga.b%C3%B8yd%20vinklet%20cervix> (lest 11.09).

Geno. (2020f). *SpermVital*. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/produkter-og-tjenester/sad/spermvital/> (lest 12.10.2023).

Geno. (2023a). *Justering av avlsmålet for NRF 2023*. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/nyheter/justering-av-avlsmålet-for-nrf-2023/> (lest 20. september 2023).

Geno. (2023b). *Karakteristikk hos NRF*. Geno. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/om-genom-norsk-rodt-fe/karakteristikk-hos-nrf/> (lest 12.09.23).

Geno. (2023c). *REDX – Kjønnseparert NRF-sæd*. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/produkter-og-tjenester/sad/redx--kjonnsseparert-nrf-sad/> (lest 12.10.2023).

Geno. (2023d). *REDX – Kjønnseparert NRF-sæd*: Geno. Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/produkter-og-tjenester/sad/redx--kjonnsseparert-nrf-sad/> (lest 03.10.2023).

Gilbert, R. O., Shin, S. T., Guard, C. L., Erb, H. N. & Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64 (9): 1879-1888. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.022>.

Hopper, R. M. (2015). *Bovine Reproduction*. Ames, Iowa: Wiley Blackwell.

Ishiyama, D., Nakamura, Y., Tanaka, T., Magata, F., Matsuda, F. & Maeda, K.-i. (2019). Severe incomplete fusion of the Müllerian ducts influences reproduction in Holstein cattle. *Theriogenology*, 123: 209-215. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.09.035>.

Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S. & Johnson, W. H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62 (1): 9-23. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>.

- Kimura, K., Reinhardt, T. A. & Goff, J. P. (2006). Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J Dairy Sci*, 89 (7): 2588-95. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72335-9.
- Kowalczyk, A., Czerniawska-Piątkowska, E. & Wrzecińska, M. (2021). The Importance of Interferon-Tau in the Diagnosis of Pregnancy. *Biomed Res Int*, 2021: 9915814. doi: 10.1155/2021/9915814.
- König, H. E. & Liebich, H.-G. (2014). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals* Schattauer.
- Larsen, R. J. & Marx, M. L. (1990). *Statistics*. Englewood Cliffs, N.J: Prentice Hall.
- Lonergan, P. & Sánchez, J. M. (2020). Symposium review: Progesterone effects on early embryo development in cattle. *Journal of Dairy Science*, 103 (9): 8698-8707. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18583>.
- Lucy, M. C. (2000). Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci*, 83 (7): 1635-47. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75032-6.
- Lucy, M. C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci*, 84 (6): 1277-93. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0.
- Mescher, A. L. (2016). *Junqueira's Basic Histology*: Mc Graw Hill Education
- Moore, S. G. & Hasler, J. F. (2017). A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science. *Journal of Dairy Science*, 100 (12): 10314-10331. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13138>.
- Naokes, D. E., Parkinson, T. J. & England, G. C. W. (2001). *Veterinary Reproduction and Obstetrics* 8th utg.: Saunders
- Padula, A. M. (2005). The freemartin syndrome: an update. *Anim Reprod Sci*, 87 (1-2): 93-109. doi: 10.1016/j.anireprosci.2004.09.008.

Refsdal, A. O., Gillund, P. & Karlberg, K. (2014a). *Fruktbarhet i fjøset*. Bergen:

Fagbokforlaget

Refsdal, A. O., Gillund, P. & Karlberg, K. (2014b). *Fruktbarhet i fjøset*, b. 1. Bergen:

Fagbokforlaget.

Reksen, O., Tverdal, A., Landsverk, K., Kommisrud, E., Bøe, K. E. & Ropstad, E. (1999).

Effects of Photointensity and Photoperiod on Milk Yield and Reproductive Performance of

Norwegian Red Cattle. *Journal of Dairy Science*, 82 (4): 810-816. doi:

[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75300-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75300-2).

Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J. & Berry, D. P. (2009).

Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci*, 92 (12): 5769-801. doi: 10.3168/jds.2009-2431.

Ropstad, E. (1992). *Reproduksjons-endokrinologi*. Institutt for reproduksjon og rettsmedisin,

NVH: NVH.

Salisbury, G. W., Beck, G. H., Elliott, I. & Willett, E. L. (1943). Rapid Methods for

Estimating the Number of Spermatozoa in Bull Semen. *Journal of Dairy Science*, 26 (1): 69-

78. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(43\)92695-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(43)92695-5).

Salisbury, G. W. & Vandemark, N. L. (1951). The Effect of Cervical, Uterine and Cornual

Insemination on Fertility of the Dairy Cow. *Journal of Dairy Science*, 34 (1): 68-74. doi:

[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(51\)91671-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(51)91671-2).

Sartori, R., Haughian, J. M., Shaver, R. D., Rosa, G. J. & Wiltbank, M. C. (2004).

Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci*, 87 (4): 905-20. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73235-X.

Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2016). *Physiology of domestic animals: Scandinavian Veterinary Press*



Vanholder, T., Opsomer, G. & de Kruif, A. (2006). Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev*, 46 (2): 105-19. doi: 10.1051/rnd:2006003.

Walsh, R. B., Walton, J. S., Kelton, D. F., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E. & Duffield, T. F. (2007). The Effect of Subclinical Ketosis in Early Lactation on Reproductive Performance of Postpartum Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90 (6): 2788-2796. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2006-560>.

Walsh, S. W., Williams, E. J. & Evans, A. C. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 123 (3-4): 127-38. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.12.001.

Wang, N., Zhou, C., Basang, W., Zhu, Y., Wang, X., Li, C., Chen, L. & Zhou, X. (2021). Mechanisms by which mastitis affects reproduction in dairy cow: A review. *Reprod Domest Anim*, 56 (9): 1165-1175. doi: 10.1111/rda.13953.

Williams, B. L., Gwazdauskas, F. C., Whittier, W. D., Pearson, R. E. & Nebel, R. L. (1988). Impact of site of inseminate deposition and environmental factors that influence reproduction of dairy cattle.

Wolfenson, D., Leitner, G. & Lavon, Y. (2015). The Disruptive Effects of Mastitis on Reproduction and Fertility in Dairy Cows. *Italian Journal of Animal Science*, 14 (4): 4125. doi: 10.4081/ijas.2015.4125.



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)