

# Contraceptie als methode in het beheer van hoefdierpopulaties

M.W. Kuiper

S.E. van Wieren



© 2010 Resource Ecology Group, Wageningen Universiteit  
Postbus 47, 6700 AA Wageningen, Nederland; <http://www.reg.wur.nl>

Dit rapport is een samenvatting van de belangrijkste wetenschappelijke studies op het gebied van contraceptie bij hoefdieren. Het onderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Faunafonds door M.W. Kuiper en S.E. van Wieren, Resource Ecology Group, Wageningen Universiteit.

## Inhoud

Samenvatting	1
1. Inleiding	3
2. Het ideale contraceptiemiddel	5
3. Man- of vrouwgerichte contraceptie	7
4. Chemocontraceptie	9
4.1 Overzicht chemische contraceptiemiddelen	9
4.1.1 Oestradiol en progesteron	9
4.1.2 Diethylstilbestrol (DES)	9
4.1.3 Levonorgestrel en norgestomet	10
4.1.4 Prostaglandine GF2 $\alpha$	11
4.1.5 Leuprolide en deslorelin	12
4.2. Evaluatie chemocontraceptie	14
5. Immunocontraceptie	17
5.1 Immunisatie tegen GnRH	17
5.1.1 GnRH-immunisatie bij witstaartherten	18
5.1.2 GnRH-immunisatie bij everzwijnen	19
5.1.3. GnRH-immunisatie bij wilde paarden	20
5.2 Immunisatie tegen de zona pellucida	21
5.3 Adjuvants	23
5.4 Evaluatie immunocontraceptie	25
6. Effecten van contraceptie op populatieniveau en enkele praktijkvoorbeelden	28
6.1 Contraceptie in computermodellen	28
6.2 Beheer van wilde paarden in Assateague Island National Seashore	28
6.3 Beheer van witstaartherten op een campus in Maryland	30

6.4	Beheer van witstaartherten op Fire Island, New York	31
6.5	Samenvatting praktijkvoorbeelden	32
6.6	Effecten van contraceptie op populatiegenetica	33
7.	Contraceptie toepassen in de praktijk	34
7.1	Hoeveel dieren behandelen	34
7.2	Tijdskosten van het toedienen van contraceptie	37
7.3	De kosten van een contraceptieprogramma	38
8.	Toediening van contraceptiemiddelen	40
8.1	Toediening door injectie, dart, biokogel of IUD	40
8.2	Immunocontraceptie d.m.v. genetisch gemodificeerde organismen	41
9.	Ethische aspecten van contraceptie	43
10.	Referenties	45
	Bijlage I Samenvattingstabel methoden en resultaten	52

## Samenvatting

Bezorgdheid over dierenwelzijn en praktische problemen met lethale methoden hebben geleid tot de ontwikkeling van contraceptiemiddelen om hoefdierpopulaties te beheren. Vroege studies hebben enkele chemische sterilisatiemiddelen getest, maar de meeste daarvan zijn niet geschikt gebleken om in het wild levende hoefdieren mee te behandelen. Sommige zijn onpraktisch vanwege de noodzaak van herhaalde toediening of de grote volumes die geïnjecteerd moeten worden om effect te verkrijgen (o.a. (synthetische) hormonen), terwijl andere afvallen vanwege negatieve bijwerkingen op de gezondheid van behandelde dieren (o.a. DES, levonorgestrel). Een ander probleem van de meeste chemocontraceptiemiddelen is hun resistentie tegen biologische afbraak, waardoor de middelen via de voedselketen overgedragen kunnen worden of zich ophopen in het milieu. Het meest veelbelovende chemocontraceptiemiddel is waarschijnlijk de GnRH-agonist leuprolide, dat wel biologisch afbreekbaar is. Eén dosis leuprolide was 100% effectief in het voorkomen van dracht bij verschillende soorten hoefdieren gedurende één jaar, zonder het reproductief gedrag van behandelde dieren te verminderen of de bronsttijd te verlengen. Op korte termijn lijken de bijwerkingen van leuprolide op gedrag en gezondheid minimaal te zijn, maar er is onvoldoende informatie beschikbaar over de effecten van langdurige behandeling met leuprolide.

Immunocontraceptie is een methode die sinds een jaar of twintig in opkomst is en die inmiddels in verschillende landen in de praktijk wordt toegepast. De toediening van een immunocontraceptiemiddel stimuleert een immuunreactie tegen bijvoorbeeld GnRH (gonadotropin-releasing hormone) of de zona pellucida van de eicel, waardoor reproductie voorkomen wordt. Studies tonen aan dat het geboortecijfer van verschillende soorten hoefdieren significant vermindert door de toediening van GnRH- en PZP-vaccins. De eenvoudigste vormen van deze vaccins zijn gedurende één jaar effectief en PZP-vaccins vereisen daarnaast tweemaalige toediening in het eerste jaar. Speciale controlled-release samenstellingen zoals GonaCon (GnRH) of SpayVac (PZP) kunnen echter met één injectie meerdere jaren contraceptie bieden. Een nadeel van GnRH- en PZP-vaccins is dat ze het gedrag van behandelde dieren veranderen, GnRH-vaccins door reproductief gedrag te onderdrukken en PZP-vaccins door de lengte van het bronsttijd te verlengen. Langdurige behandeling met PZP kan blijvende onvruchtbaarheid veroorzaken terwijl de lange-termijn effecten van GnRH-behandeling onvoldoende onderzocht zijn. De adjuvants die aan immunocontraceptiemiddelen toegevoegd moeten worden om de immuunreactie te versterken kunnen weefselreacties veroorzaken op de plek van injectie.

Afhankelijk van het beheersdoel en de soort- en gebiedsspecifieke populatiegegevens moet 50-90% van de vruchtbare vrouwtjes in een populatie behandeld worden om de populatie te stabiliseren of te reduceren. De weinige studies die de effecten van contraceptie op populatieniveau hebben onderzocht tonen aan dat kortwerkende PZP-vaccins de populatiegrootte binnen één tot vier jaar kunnen stabiliseren. Hoeveel jaar het duurt voor de populatie in grootte afneemt is variabel en afhankelijk van de soort- en gebiedsspecifieke gegevens zoals sterfte en immigratie. In geschikte situaties kan men een populatie eerst met lethale methoden reduceren en vervolgens door middel van contraceptie op het gewenste aantal houden. Omdat de arbeidskosten een belangrijk deel uitmaken van de totale kosten

van een contraceptieprogramma is het gebruik van langwerkende contraceptiemiddelen het meest efficiënt. Als het behoud van genetische variatie van belang is kunnen echter beter kortwerkende middelen gebruikt worden, zodat een groter deel van de populatie (afwisselend) een bijdrage kan leveren aan de genenpoel. Ook verkleint het gebruik van kortwerkende middelen het risico op uitsterven van kleine populaties. Contraceptie kan een waardevolle methode zijn om hoefdierpopulaties te beheren, maar omdat elke situatie anders is met betrekking tot diersoort, populatiegrootte, gebied, doelstelling, budget en andere factoren, moet per situatie bekeken worden of contraceptie een geschikte aanvulling kan zijn op het beheer.

## 1. Inleiding

Contraceptie is een relatief nieuwe benadering binnen het beheer van in het wild levende dieren, die in verschillende landen al in de praktijk wordt toegepast. In Nederland is het beheer van wild regelmatig onderwerp van debat, zowel de vraag over het wel of niet reduceren van populaties als ook de methode waarmee dit zou moeten gebeuren. In veel gevallen is de schade die dieren veroorzaken de voornaamste reden om wildpopulaties in aantal te willen beperken, bijvoorbeeld schade aan landbouwgewassen of bosbouw, ongelukken op de weg of de overdracht van ziekten naar mensen of vee<sup>1,50;102</sup>. Daarnaast kan inperking van het aantal dieren gewenst zijn wanneer de populatie een nadelige invloed heeft op zijn natuurlijke omgeving en de biodiversiteit afneemt of de habitatstructuur verandert<sup>13,79</sup>. Ten slotte is men soms van mening dat er te veel dieren van één soort in een bepaald gebied aanwezig zijn wanneer de dichtheid nadelig is voor de populatie zelf, er niet voldoende voedsel is en een aanzienlijk deel van de populatie ziek wordt of sterft<sup>68,96</sup>.

Grote hoefdieren zoals everzwijn, damhert, edelhert, ree, paard en rund hebben meestal een grote invloed op hun omgeving<sup>66,67,74,88</sup>. Vanwege de overlast of schade die hoefdieren kunnen veroorzaken worden deze soorten regelmatig beschouwd als 'probleemsoorten' en is de beperking van aantallen hoefdieren in veel situaties gewenst. Voor het beheer van hoefdierpopulaties wordt traditioneel gebruik gemaakt van het manipuleren van het sterftcijfer, meestal door middel van de jacht of afschot. Het verwijderen van dieren is de snelste methode om de populatiegrootte te beperken, want het effect is na de actie onmiddellijk zichtbaar<sup>35</sup>. Echter, jacht is daardoor niet automatisch de meest effectieve methode om hoefdierpopulaties te beheren, omdat de vermindering van het aantal dieren slechts tijdelijk is en de aantallen binnen afzienbare tijd weer zullen zijn gegroeid<sup>53</sup>. Naast rekolonisatie door immigratie vanuit naastgelegen gebieden kunnen gereduceerde hoefdierpopulaties snel weer herstellen door verhoogde reproductie<sup>94,101</sup>. Dit maakt het noodzakelijk om de jacht jaarlijks te herhalen, zoals bijvoorbeeld bij het beheer van everzwijnen op de Veluwe. Andere nadelen van de jacht zijn dat de sociale structuur van hoefdierpopulaties wordt verstoord, wat gevolgen kan hebben voor de ruimtelijke verspreiding van hoefdieren binnen een gebied<sup>75,101</sup>. De veiligheid van mensen kan een aspect van zorg zijn bij jacht in cultuurlandschappen of in natuurgebieden die een recreatieve functie hebben<sup>45</sup>. Daarnaast neemt de sociale acceptatie van de jacht af, omdat het door een toenemend aantal mensen als 'inhumaan' beschouwd wordt<sup>16,68</sup>.

Contraceptie is een methode die fundamenteel verschilt van de gangbare werkwijzen voor het beheren van hoefdieren: in plaats van het sterftcijfer te beïnvloeden, richt contraceptie zich op het omlaag brengen van het geboortecijfer. Door een deel van de populatie te behandelen met een contraceptiemiddel kan het aantal geboortes worden teruggebracht en de populatiegroei worden geremd. In tegenstelling tot de jacht, waarbij het aantal reproductieve dieren ook wordt beperkt, blijven onvruchtbare dieren na het toepassen van contraceptie in de populatie aanwezig. Hiermee behouden ze hun invloed op dichtheidsafhankelijke voortplanting en sterfte, en wordt voorkomen dat het geboortecijfer in eerste instantie sterk toeneemt zoals vaak gebeurt na een populatiereductie<sup>45,94</sup>. Hoewel veel onderzoekers denken dat contraceptie een goede methode is om hoefdierpopulaties te beheren en een oplossing kan vormen voor problemen met de jacht zoals hierboven staan

beschreven<sup>11,12,23,65</sup>, betwijfelen anderen of contraceptie wel effectief genoeg kan zijn om tegen redelijke kosten het gewenste effect te bereiken<sup>35,100</sup>. En hoewel contraceptie door het publiek en dierenrechtenorganisaties over het algemeen beschouwd wordt als een 'humane' methode vergeleken met de jacht<sup>72</sup>, is het de vraag hoe realistisch die visie is wanneer de bijwerkingen van contraceptiemiddelen op gezondheid, sociale interacties en gedrag bekeken worden. In dit rapport wordt een overzicht gegeven van de middelen die op het moment beschikbaar zijn voor contraceptie van hoefdieren, met aandacht voor effectiviteit, veiligheid en bijwerkingen. Enkele toepassingen van contraceptie in de praktijk worden ook besproken. Hiermee zal een beeld worden geschetst van de mogelijkheden en beperkingen van contraceptie voor het beheer van hoefdierpopulaties in Nederland.



*Damherten op Schouwen-Duiveland.*



## 2. Het ideale contraceptiemiddel

In de loop der jaren is er een grote verscheidenheid aan contraceptiemiddelen en toedieningmethoden ontwikkeld<sup>52,82</sup>. Om al deze verschillende middelen te kunnen beoordelen op hun bruikbaarheid in het beheer van hoefdierpopulaties, is het behulpzaam om de eigenschappen van het 'ideale' contraceptiemiddel vast te stellen. In tabel 1 zijn de belangrijkste kenmerken te vinden die zijn vastgesteld door onderzoekers op het gebied van contraceptie. Vanzelfsprekend moet een contraceptiemiddel effectief zijn in het voorkomen van voortplanting in individuele dieren en in het reduceren van de omvang van een populatie, bij voorkeur tegen beperkte kosten. Door een middel te gebruiken dat werkzaam is over meerdere jaren wordt de kosteneffectiviteit van een behandelprogramma gemaximaliseerd en de mate van verstoring voor de behandelde populatie beperkt. Echter, in populaties waarvoor het behoud van genetische diversiteit van belang is of waarvoor een hoog risico op uitsterven geldt, zijn kort werkzame middelen ( $\pm 1$  jaar) een betere optie<sup>13,45</sup>. Door een omkeerbare behandeling (waarbij de vruchtbaarheid na een bepaalde tijd terugkeert) te combineren met een uitgewerkt beheersplan kan men een groter deel van de populatie een bijdrage laten leveren aan de genenpool, om zo inteelt, verlies van genetische variatie en risico op uitsterven te beperken<sup>55</sup>. Ook vinden sommige onderzoekers het wenselijk dat contraceptiemiddelen een beperkte duur hebben om misbruik te voorkomen<sup>53</sup>.

Voor de toediening van contraceptiemiddelen kunnen verschillende methoden gebruikt worden, zoals injectie met de hand<sup>110</sup>, injectie op afstand door middel van darts of biokogels<sup>25,26,42</sup>, chirurgische implantatie<sup>85</sup>, *intra-uterine devices* (IUD)<sup>51</sup>, orale toediening<sup>8,76</sup> of vectorgedragen verspreiding door middel van genetisch gemodificeerde virussen, bacteriën of parasieten<sup>7,8,22</sup>. Idealiter is de toediening van een contraceptiemiddel eenvoudig en efficiënt en veroorzaakt het zo min mogelijk verstoring. In ieder geval zouden zowel het contraceptiemiddel als de manier van toediening de gezondheid en het welzijn van behandelde dieren niet mogen schaden. Daarnaast zouden het gedrag van het dier, de sociale interacties en de sociale organisatie van de populatie zo min mogelijk beïnvloed mogen worden door de behandeling. Ten slotte wordt de voorkeur gegeven aan contraceptiemiddelen die niet via de voedselketen van het behandelde dier overgedragen kunnen worden op roofdieren, aaseters of mensen.

In werkelijkheid zal er nooit één ideaal contraceptiemiddel bestaan, omdat elke situatie uniek is en de nadruk legt op andere criteria<sup>86</sup>. Daarom zijn er verschillende middelen en methoden van toediening in gebruik<sup>35</sup>, variërend van omkeerbare, korte-termijn middelen voor kleine populaties of zeldzame soorten, tot lange-termijn of zelfs permanente sterilisatiemiddelen voor minder kwetsbare soorten of om populaties van schadelijke niet-inheemse soorten te verwijderen<sup>21</sup>. Niet-chirurgische toediening op afstand is gewenst om kosteneffectiviteit te bewaren bij grote populaties van kortlevende dieren, terwijl chirurgische ingrepen algemeen toegepast worden bij langlevende dieren zoals olifanten. Andere criteria, zoals een hoge mate van effectiviteit, gelden in vrijwel alle situaties. De criteria in tabel 1 bieden een handvat voor het beoordelen en evalueren van verschillende middelen, en het vergelijken van verschillende methoden onderling.

**Tabel 1.** Overzicht van de belangrijkste kenmerken van het 'ideale' contraceptiemiddel, genoemd door onderzoekers op het gebied van contraceptie.

<b>Kenmerken van het ideale contraceptiemiddel</b>	<b>Bron</b>
1. <i>Effectiviteit</i> - hoge mate van effectiviteit	25, 48, 51, 54, 104
2. <i>Toediening</i> - geschikt voor eenvoudige en efficiënte toediening	6, 24, 25, 48, 51, 55, 101, 105
3. <i>Duur</i> - een enkele toediening is effectief voor minstens één jaar	6, 51, 55, 101, 106,
4. <i>Kosten</i> - hoge kosteneffectiviteit	6, 24, 25, 51, 55, 101, 105
5. <i>Omkeerbaarheid</i> - onvruchtbaarheid is omkeerbaar	6, 99, 51, 55, 60, 86, 105
6. <i>Gezondheid</i> - veilig voor de gezondheid van behandelde dieren	6, 25, 51, 55, 101, 105
7. <i>Gedrag</i> - geen of minimaal effect op gedrag	14, 24, 51, 55, 105
8. <i>Sociale structuur</i> - geen of minimal effect op sociale structuur	14, 53, 55, 101
9. <i>Milieu en veiligheid</i> - wordt niet doorgegeven via de voedselketen	55, 101

### 3. Man- of vrouwgerichte contraceptie

Sinds de eerste onderzoeken naar contraceptie is er discussie geweest over de vraag of man- of vrouwgerichte contraceptie het meest praktisch is voor populatiebeheer<sup>34</sup>. Voor diersoorten waar vrouwtjes paren met territoriale of dominante mannetjes leek mangerichte contraceptie de meest efficiënte optie<sup>24</sup>. In wilde paarden bijvoorbeeld is the sociale structuur een kudde bestaande uit een groep merries, een dominante hengst en soms enkele ondergeschikte hengsten<sup>104</sup>. Het beheer van populaties wilde paarden in de VS was daarom in eerste instantie gericht op sterilisatie van hengsten, in de verwachting dat het behandelen van één hengst reproductie van meerdere merries zou beperken<sup>29,61</sup>.

Om het concept te testen werden hengsten van kuddes waarin slechts één hengst aanwezig was, gesteriliseerd door vasectomie<sup>61</sup>. Het volgende jaar was het aantal pasgeboren veulens afgenomen met 80% ten opzichte van eerdere jaren. Na dit resultaat werd een aantal verschillende potentiële contraceptiemiddelen getest bij gedomesticeerde hengsten<sup>61</sup>. Een micro-ingekapselde vorm van testosteron propionaat (mTP), een middel dat de productie van sperma onderdrukt, werd geselecteerd voor een veldexperiment met wilde paarden<sup>105</sup>. Zeven hengsten werden geïmmobiliseerd en met de hand geïnjecteerd met 5-10 g mTP. Vergelijken met onbehandelde controlepopulaties was er een afname van 83% in het aantal geboortes. Het immobiliseren van de hengsten bracht echter hoge kosten met zich mee, kostte veel tijd en was gevaarlijk voor de veiligheid van de dieren. Pogingen om mTP van een afstand toe te dienen met darts waren succesvol, maar de minimumdosis van 3 g mTP was zo groot dat er vier darts per hengst nodig waren om de hoeveelheid toe te dienen, wat erg onpraktisch was in het veld<sup>105</sup>.

De bevinding dat dominante hengsten verantwoordelijk waren voor het grootste deel van het aantal veulens werd bevestigd in een latere studie met een groter aantal hengsten die door vasectomie werden gesteriliseerd<sup>29</sup>. Toch dachten deze onderzoekers dat het steriliseren van alleen dominante hengsten waarschijnlijk niet voldoende zou zijn om de reproductie zover terug te brengen dat er een reductie in populatiegrootte te verwachten zou zijn, omdat merries ook paren met jonge of ondergeschikte hengsten. Een computermodel van de populatiedynamica van wilde paarden liet hetzelfde zien: het steriliseren van alleen dominante hengsten resulteerde in een relatief geringe reductie in populatiegroei, zelfs wanneer andere hengsten slechts 10% van de paringen uitvoerden<sup>34</sup>. Alleen als een groot gedeelte van alle hengsten gesteriliseerd kon worden, kon de populatiegroei ingeperkt worden. Dit idee werd gedeeld door twee andere onderzoekers, die in een overzichtsstudie naar contraceptie in gewervelde dieren concludeerden dat voor soorten waarin vrouwtjes kunnen paren met meerdere partners, waarschijnlijk zelfs de sterilisatie van een groot deel van de mannetjes populatiegroei niet kan beperken<sup>24</sup>.

Een andere uitkomst van de modelstudie was dat beide scenario's (het steriliseren van een gedeelte van de dominante hengsten of van alle hengsten los van sociale status) resulteerden in een verstoring van het jaarlijkse geboortepatroon<sup>34</sup>. In het model werd in onbehandelde populaties 8% van de veulens laat in het seizoen (augustus - oktober) geboren, terwijl als >80% van alle hengsten gesteriliseerd was, dit percentage steeg tot 40-50%. Dit werd als volgt verklaard. Onder normale omstandigheden hebben merries een relatief vaste jaarlijkse reproductieve cyclus, de draagtijd duurt 340-350 dagen en ongeveer 10 dagen na de

geboorte wordt de merrie hengstig. Als de merrie dan opnieuw drachtig wordt, zal ze ieder jaar ongeveer rond dezelfde tijd een veulen krijgen. Echter, wanneer een groot deel van de hengsten onvruchtbaar is en de paring was niet succesvol, dan zal de merrie tot wel 6-10 keer opnieuw in oestrus komen, tot in de nazomer of herfst. Zelfs al is de kans om te paren met een vruchtbare hengst klein, dan nog zal een belangrijk deel van de merries uiteindelijk toch drachtig worden omdat ze zoveel gelegenheden hebben per jaar. Eenmaal uit de normale voortplantingscyclus kan het moeilijk zijn om weer in de pas te komen.

Niet alleen in wilde paarden kan mangerichte contraceptie het geboortepatroon verstoren. Ook in verschillende soorten herten is een verlenging van de bronsttijd waargenomen in populaties die met contraceptiemiddelen werden behandeld<sup>42,78,107</sup> en het ligt in de verwachting dat het effect zichtbaar zal zijn bij de meeste dieren waarvan de vrouwtjes meerdere oestruscycli per jaar hebben<sup>34</sup>. Wanneer geboorte laat in het jaar plaatsvindt gaan jonge dieren de winter in met een lager lichaamsgewicht wat waarschijnlijk zal leiden tot hogere sterfte van jongen tijdens de winter<sup>26</sup>. Hoewel dit uiteindelijk het afremmen van de populatiegroei tot gevolg zal hebben is het als methode niet geschikt. Om deze reden is contraceptie in hoefdieren met name gericht op het behandelen van vrouwtjesdieren.



*Foto: Martijn de Jonge*

*Konikpaarden in de Oostvaardersplassen.*

## 4. Chemocontraceptie

### 4.1 Overzicht van chemische contraceptiemiddelen

Vanaf de jaren '60, toen onderzoek naar contraceptie voor dieren begon, tot aan de late jaren '80 heeft het onderzoek zich met name gericht op chemische steriliserende middelen, zoals (synthetische) oestrogenen en progestagenen. Oestrogenen zijn hormonen die een belangrijke rol spelen bij de regulatie van reproductie en zwangerschap, zoals oestradiol, oestriol en oestron. Progestagenen zijn hormonen die dezelfde functie hebben als progesteron. Progesteron is belangrijk bij de bevruchting en voor een succesvolle zwangerschap en is het enige natuurlijke progestageen, alle andere worden synthetisch vervaardigd. Zowel oestrogenen als progestagenen zijn steroïdhormonen, wat betekent dat ze een cholesterolmolecuul als moleculaire basis hebben en daardoor niet in water oplosbaar zijn.

#### 4.1.1 Oestradiol en progesteron

In een test met wilde paarden (*Equus caballus*) kregen 150 merries een siliconenimplantaat met vijf verschillende hoeveelheden oestradiol (E) en progesteron (P)<sup>90</sup>. De merries die 8 g E of 8 g E + 8 g P of 4 g E + 12 g P kregen vertoonden minder oestrusgedrag, maar wanneer ze met een hengst werden geplaatst paarden de meesten toch en werd meer dan 80% van alle merries drachtig. De hormoonconcentraties in het bloed bleken al binnen vijf weken nadat de implantaten toegediend waren snel te dalen. Hormonen zoals oestradiol en progesteron die lichaamseigen zijn worden herkend door metabolische enzymen en binnen korte tijd afgebroken<sup>61</sup>. Daardoor zou een langwerkende dosis zo groot moeten zijn dat het moeilijk of zelfs onmogelijk is om toe te dienen.

Afbraak door het lichaam kan worden geremd door synthetische hormonen te gebruiken, wat het contraceptiemiddel een langere werkingsduur geeft. In een volgend experiment werden daarom implantaten met het synthetische oestrogeen ethinylestradiol bij wilde paarden geplaatst<sup>91</sup>. Ethinylestradiol bleef veel langere tijd actief dan oestrogeen en de effectiviteit van het middel in het voorkomen van dracht was 88-100% over twee jaar. Er werden geen nadelige effecten gemeld met betrekking tot de gezondheid van de merries, en de veulens die toch geboren werden bij behandelde merries waren gezond.

#### 4.1.2 Diethylstilbestrol (DES)

Eén van de eerst onderzochte synthetische oestrogenen was het middel DES (diethylstilbestrol), dat abortus veroorzaakt wanneer het wordt toegediend aan drachtige dieren. In een initiële studie waarbij 36 drachtige wapitiherten (*Cervus canadensis*) werden geïnjecteerd met doses van 75 to 200 mg DES werd de dracht bij slechts 30% van de hinds afgebroken<sup>37</sup>. In een volgende studie werden 65 witstaartherten (*Odocoileus virginianus*) geïnjecteerd met 150 mg DES voor en tijdens dracht, waarna 84% van de behandelde hinds een abortus kreeg<sup>40</sup>. Het bleek dat de eerste maand van de dracht kwetsbaarder was voor onderbreking met DES dan de derde maand, wat waarschijnlijk het lage percentage abortussen verklaarde in de studie met wapitiherten.

Omdat de meeste hoefdieren na een (vroeg) abortus opnieuw drachtig kunnen worden

zolang de bronsttijd nog in gang is, is het noodzakelijk om DES doorlopend toe te dienen om het aantal geboortes terug te brengen<sup>76</sup>. Om dit te bereiken zijn experimenten gedaan naar toediening van DES in voedsel, maar deze waren niet succesvol. Witstaartherten die DES kregen in maïs en appels begonnen na een paar dagen dit voedsel te vermijden, en de behandeling resulteerde in slechts een lichte afname in het geboortecijfer<sup>40</sup>. Een vergelijkbaar resultaat werd geboekt toen witstaartherten speciaal samengesteld voer kregen met een ingekapselde vorm van DES om smaak en geur te maskeren<sup>76</sup>. De onderzoekers concludeerden dat het toedienen van DES via voedsel niet bruikbaar was voor populatiebeheer van herten.

Een andere oplossing om steroïden continu toe te kunnen dienen zijn implantaten die in het lichaam structureel kleine hoeveelheden van het contraceptiemiddel afgeven. Een maand voor de start van de bronsttijd kregen vijf witstaartherten een siliconenstaafje in het oor geïmplantéerd dat dagelijks ongeveer 193 µg DES afgaf<sup>77</sup>. Geen van de hinds werd drachtig tijdens de volgende bronsttijd en aan de structuur van de ovaria bij autopsie kon men zien dat ovulatie onderdrukt was geweest.

De studies naar DES als contraceptiemiddel brachten een aantal bijwerkingen aan het licht. Het lichaamsgewicht van herten die met DES behandeld waren was significant lager dan het gewicht van onbehandelde dieren<sup>40</sup>. Wanneer hinds die behandeld waren met DES toch drachtig bleven, droegen zij in 80% van de gevallen kalveren van het mannelijk geslacht, significant meer dan onbehandelde hinds die in 52% van de gevallen een mannelijk kalf droegen<sup>40</sup>. Van de vijf hinds die implantaten met DES kregen waren er drie met vergrote melkklieren, die een heldere tot pusachtige vloeistof bevatten<sup>77</sup>. Bij één hinde werd de ontwikkeling van een geweiaanzet waargenomen<sup>77</sup>.

#### **4.1.3 Levonorgestrel en norgestomet**

Een paar dagen voor de oestrus begint de hoeveelheid progesteron in van het bloed van vruchtbare vrouwtdieren te dalen, wat gevolgd wordt door een stijging in oestradiol<sup>89</sup>. Deze twee veranderingen brengen de typische gedragsveranderingen tijdens de oestrus teweeg, zoals toegenomen activiteit en reproductief gedrag<sup>89</sup>. De werking van contraceptiemiddelen met synthetische progestagenen berust op het voorkómen van de daling in het progesteronniveau, zodat het behandelde dier ongevoelig wordt voor de stijging van oestradiol en niet in oestrus komt<sup>48</sup>. Daarnaast wordt dracht voorkomen doordat progestagenen de productie van follikelstimulerend hormoon (FSH) onderdrukken, een hormoon dat van belang is voor de rijping van eicellen en ovulatie<sup>85</sup>. De synthetische progestagenen die onderzocht zijn voor gebruik als contraceptiemiddel bij hoefdieren zijn levonorgestrel en norgestomet.

Ondanks succesvol gebruik van levonorgestrel bij andere diersoorten<sup>85</sup> bleek het middel als contraceptiemiddel bij witstaartherten slechts matig effect te hebben. Zes volwassen hinds en zes vrouwelijke kalveren werden gevangen en kregen na verdoving 6 of 9 implantaten die elk 36 mg levonorgestrel bevatten<sup>115</sup>. In het eerste jaar hadden vijf van de zes volwassen hinds normale oestruscycli en drie van hen (50%) werden drachtig vergeleken met bijna 100% van de herten in een onbehandelde controlepopulatie. Levonorgestrel leek geen nadelig effect te hebben op dracht en geboorte, maar wel op de algemene gezondheid van de herten. Tijdens het eerste jaar van het onderzoek werden bij vijf van de zes herten gezondheidsproblemen en verminderde voedselinname waargenomen. Twee herten stierven

tijdens het experiment en de bevindingen na autopsie waren onder meer inwendige bloedingen en necrose (afsterven) van vetweefsel in het lichaam. De andere drie herten herstelden nadat de implantaten verwijderd waren en werden het volgende jaar drachtig, wat aangaf dat de behandeling omkeerbaar was. Gebaseerd op de resultaten achtten de onderzoekers levonorgestrel niet geschikt als contraceptiemiddel bij witstaartherten.

Het progestageen norgestomet werd onderzocht als contraceptiemiddel bij in gevangenschap levende zwartstaartherten (*Odocoileus hemionus columbianus*)<sup>48</sup>. Zeven hinds ontvingen siliconenimplantaten met 42 mg norgestomet, toegediend van een afstand van 3 tot 30 meter door middel van biokogels. De buitenkant van een biokogel bestaat uit biologisch afbreekbaar materiaal dat oplost wanneer het met lichaamsvloeistoffen in contact komt, waarbij het siliconenimplantaat vrijkomt. Het implantaat gaf dagelijks een kleine hoeveelheid norgestomet af voor een periode van vier maanden. Geen van de zeven hinds toonde oestrusgedrag tijdens de bronsttijd en ze werden -in tegenstelling tot onbehandelde hinds in de kudde- niet door bokken benaderd. Alle drie de onbehandelde en geen van de zeven behandelde hinds bracht een kalf voort dat jaar. Het volgende jaar werd de behandeling niet herhaald en kregen alle tien de herten kalveren, wat omkeerbaarheid van de behandeling aantoonde.

Norgestometimplantaten werden vervolgens getest bij witstaartherten in een grootschaliger experiment om de minimum effectieve dosis te bepalen<sup>25</sup>. Siliconenimplantaten met doses van 14, 21, 28 of 42 mg norgestomet, afgegeven over een periode van 6 maanden, werden opnieuw toegediend met behulp van biokogels. Van de 63 hinds die de 42 mg dosis ontvingen, werden er 6 (9.5%) drachtig dat jaar. Van de 11 en 9 hinds die respectievelijk 28 en 21 mg norgestomet kregen werd 0% drachtig. De 14 mg dosis was beduidend minder effectief, 12 van de 23 hinds (48%) werd drachtig. Een dosis van 21 mg norgestomet lijkt dus voldoende om dracht te voorkomen in witstaartherten en kan een indicatie vormen voor de dosering bij hertensoorten van gelijk gewicht als het witstaarthert.

Tijdens het onderzoek aan zwartstaartherten toonden alle herten signalen van acute pijn op de plek waar de biokogel het lichaam binnenkwam (biceps of gluteale spieren)<sup>48</sup>. Bij drie van de zeven herten werden weefselbeschadigingen waargenomen, veroorzaakt door het uren achtereen optrekken van het achterbeen. Bij één hert dat de kogel van een afstand van 20 m ontvangen had, bleef het letsel 21 dagen waarneembaar. De herten die benaderd konden worden hadden een zwelling op de plek van inslag van 3 tot 5 cm in diameter, maar geen abscessen of afstervend weefsel.

#### **4.1.4 Prostaglandine GF2 $\alpha$**

In zoogdieren is progesteron essentieel voor het tot stand komen en behouden van zwangerschap. Gebaseerd op deze belangrijke rol zijn er anti-progestagenen ontwikkeld als contraceptiemiddel die de productie van progesteron omlaag brengen<sup>87</sup>. Een belangrijke bron van progesteron is het gele lichaam (corpus luteum), een tijdelijke structuur die telkens opnieuw ontstaat tijdens de ovulatie. Wanneer er geen bevruchting plaatsvindt produceert de baarmoeder het hormoon prostaglandine F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), wat ervoor zorgt dat het gele lichaam degradeert en de productie van progesteron stopt zodat er opnieuw ovulatie plaats kan vinden. Wanneer PGF2 $\alpha$  toegediend wordt aan drachtige dieren degradeert het gele lichaam en stopt de productie van progesteron, waardoor abortus wordt veroorzaakt<sup>26</sup>.

PGF2 $\alpha$  werd getest als contraceptiemiddel bij twee kudde in gevangenschap levende witstaartherten, op afstand toegediend via biokogels die 25 mg PGF2 $\alpha$  bevatten<sup>26</sup>. In de ene kudde werden elf hinds behandeld op de 95<sup>e</sup> dag van de dracht (berekend vanaf de gemiddelde paringsdatum van de kudde) en zeven andere hinds op de 133<sup>e</sup> dag. Geen van de hinds kreeg kalveren dat jaar, vergeleken met elf van de twaalf (92%) van de onbehandelde herten. In de tweede kudde werden zes hinds behandeld op de 95<sup>e</sup> dag van de dracht en vier op de 149<sup>e</sup> dag. Zes van deze tien hinds werden eerst gevangen en vervolgens vanaf een afstand van drie meter geschoten met een biokogel. In deze groep voltooiden drie hinds (38%) hun dracht en 17 van de 19 (90%) onbehandelde hinds. Een verklaring voor de lagere effectiviteit van PGF2 $\alpha$  in de tweede kudde (62%) vergeleken met de eerste (100%) kan wellicht gevonden worden in het verhoogde stressniveau, veroorzaakt door het vangen en van korte afstand schieten van de dieren. In een eerdere studie waarbij een vergelijkbare dosis van PGF2 $\alpha$  geen abortus bij de behandelde witstaartherten veroorzaakte gaven de onderzoekers aan dat een verhoogd stressniveau, veroorzaakt doordat wilde herten in gevangenschap werden gehouden, de oorzaak was van de geringe effectiviteit<sup>9</sup>.

PGF2 $\alpha$  wordt in de veeteelt veel gebruikt als middel om abortus te veroorzaken bij koeien, schapen en varkens<sup>87</sup>. Om dracht te voorkomen of in een vroeg stadium te beëindigen moet PGF2 $\alpha$  herhaaldelijk toegediend worden in de laatste fase van elke ovulatiecyclus, en de bruikbaarheid van het middel voor in het wild levende dieren werd daarom gering geacht<sup>87</sup>. Gebaseerd echter op de resultaten van hun studie stelden de onderzoekers van bovenstaand experiment met witstaartherten voor dat PGF2 $\alpha$  een geschikt contraceptiemiddel voor herten kan zijn wanneer het eenmalig wordt toegediend aan het einde van de bronsttijd, zodat lopende zwangerschappen beëindigd worden terwijl de kans beperkt is dat hinds nog weer in oestrus zullen komen en opnieuw drachtig worden<sup>26</sup>. Er zijn geen aanwijzingen dat behandeling met PGF2 $\alpha$  of mogelijke complicaties tijdens abortus nadelig zijn voor de gezondheid van de hinds.

#### **4.1.5 Leuprolide en deslorelin**

Een relatief nieuwe benadering binnen de chemocontraceptie die de laatste tien jaar is opgekomen maakt gebruik van stoffen die lijken op het hormoon GnRH (gonadotropin-releasing hormone)<sup>3</sup>. Deze stoffen hebben dezelfde werking als GnRH en worden daarom GnRH-agonisten genoemd. GnRH is een hormoon dat in lage, pulsatiele hoeveelheden wordt afgegeven door neuronen in de hypothalamus, en de hypofyse stimuleert om LH (luteïniserend hormoon) en FSH (follikelstimulerend hormoon) te produceren, twee hormonen die essentieel zijn voor het functioneren van de ovaria en testes<sup>31,41</sup>. Een hoge hoeveelheid van GnRH echter heeft een tegenovergesteld effect doordat het de gevoeligheid van de receptoren in de hypofyse vermindert en daardoor de reproductie remt. Contraceptie met GnRH-agonisten werkt volgens dit principe<sup>18</sup>. GnRH-agonisten waren al in gebruik om reproductie van vee te controleren, maar de toepassingen voor wilde dieren waren beperkt vanwege de noodzaak voor continue toediening gedurende de hele bronsttijd<sup>3</sup>. De ontwikkeling van implantaten heeft deze toepassing mogelijk gemaakt. Twee GnRH-agonisten die getest zijn op hoefdieren zijn leuprolide en deslorelin.

Vijf in gevangenschap levende muildeerherten (*Odocoileus hemionus*) ontvingen 10 mg leuprolide acetaat (D-Leu<sup>6</sup>-GnRH-Pro<sup>9</sup>-ethylamide) in een controlled-release middel



genaamd ATRIGEL<sup>®</sup>, toegediend met het ATRIGEL<sup>®</sup> toedieningssysteem (Atrix Laboratories, Inc., Fort Collins, Colorado<sup>28</sup>)<sup>3</sup>. Dit middel zorgde voor regelmatige afgifte van kleine hoeveelheden leuprolide over een periode van 90 dagen. Vanaf 45 dagen na toediening waren de hormoonconcentraties van LH en progesteron teruggevallen tot zeer lage niveaus, zodat ovulatie en het ontstaan van het gele lichaam voorkomen werden. Dit effect duurde tot minimaal 120 dagen na behandeling en geen van de herten werd drachtig dat jaar. Het volgende jaar was de werking van de ovaria hersteld en alle vijf hindses werden drachtig. Geboortedata, aantal kalveren per hinde en geboortegewicht van de kalveren was gelijk aan dat van onbehandelde dieren. De behandeling van edelherten (*Cervus elaphus*) met dezelfde leuprolidemiddel resulteerde eveneens in lage progesteronniveaus en 100% contraceptie gedurende één jaar<sup>2</sup>.

Na de goede resultaten met onderhuidse injectie werd er onderzocht of toediening met darts dezelfde effectiviteit zou hebben, wat de behandeling geschikter zou maken voor toepassing in het veld. Zes in gevangenschap levende edelherten ontvingen leuprolide, toegediend met darts van een afstand van drie meter<sup>4</sup>. Er werd een polymerenmatrix gebruikt waaruit 32.5 mg leuprolide gereguleerd vrijkwam over een periode van 180 dagen. Negen andere herten werden gedart met een placebo-oplossing die geen leuprolide bevatte maar verder een identieke samenstelling had. De toediening van alle negen darts met placebo-oplossing was succesvol, maar twee van de zes leuprolidedarts ontladden niet geheel. Desondanks was de behandeling bij alle zes hindses effectief in het onderdrukken van ovulatie en het voorkomen van dracht gedurende één bronsttijd. De negen hindses die het placebo kregen werden allen drachtig. Het onderdrukken van de hormoonconcentraties van LH en progesteron hield aan gedurende 215 dagen, gevolgd door een herstel naar normale concentraties in het volgende jaar. Er werden geen weefselbeschadigingen waargenomen ten gevolge van de toediening met darts.

Vervolgens werd de effectiviteit van leuprolide getest bij in het wild levende edelherten. Zeventien hindses werden gevangen en ontvingen een onderhuidse injectie met ATRIGEL<sup>®</sup>, waaruit 32,5 mg leuprolide vrijkwam over een periode van 90 dagen<sup>18</sup>. Zeventien andere hindses dienden als controle en ontvingen een placebo-oplossing zonder leuprolide. Na de bronsttijd waren 0% van de behandelde hindses drachtig en 79% van de onbehandelde. Na één jaar was het effect van de behandeling uitgewerkt en werd 100% van de behandelde en 90% van de onbehandelde hindses drachtig.

Behandeling met leuprolide leek geen grote effecten te hebben op gedrag en gezondheid. Uit de studies met muilnierherten en edelherten bleek dat gedurende de bronsttijd het reproductief gedrag van behandelde hindses niet verminderd was ten opzichte van onbehandelde dieren<sup>3,18</sup>. Ook werd de normale bronsttijd niet verlengd, zoals bij sommige andere contraceptiemiddelen het geval is. Er waren geen verschillen tussen behandelde en onbehandelde edelherten in de hoeveelheid tijd die besteed werd aan eten, rusten en bewegen<sup>18</sup>. Vergelijking van twintig chemische en hematologische bloedwaarden van behandelde en onbehandelde muilnierherten gaf geen verschillen aan, behalve een verhoogd niveau van creatine kinase (CK) in behandelde dieren, een enzym dat gemaakt wordt door spiercellen<sup>3</sup>. De onderzoekers gingen echter niet in op de mogelijke betekenis van deze verhoging. Behandeling met leuprolide had daarnaast een effect op het lichaamsconditie van behandelde edelherten<sup>18</sup>. Tijdens de winter verloren behandelde hindses bijna twee maal zo

snel lichaamsvet en spiermassa als onbehandelde hinds. Het jaar na beëindiging van de behandeling waren de verschillen in conditie verdwenen.

Deslorelin is een andere GnRH-agonist, die minder uitgebreid is getest op wilde hoefdieren. Een studie bekeek het effect van deslorelin op runderen (*Bos indicus*), bestemd voor de veeteelt, die op extensief beheerde graslanden werden gehouden<sup>27</sup>. Deslorelin implantaten werden onderhuids ingebracht in het oor. Een groep van 99 runderen ontving implantaten met een hoge dosering van 12 mg deslorelin, en na een jaar was 9% van de koeien in deze groep drachtig geworden. Twee andere groepen van 89 en 76 runderen die op verschillende locaties gehouden werden ontvingen een lage dosering van 8 mg deslorelin, en hiervan werd respectievelijk 10% en 26% drachtig. De onderzoekers dichtten dit relatief grote verschil toe aan verschillen in habitat. De dieren in de groep waar de effectiviteit het hoogst was (10% drachtig) hadden tijdens de eerste zes maanden van de studie een sterke daling in lichaamsgewicht doorgemaakt, terwijl het lichaamsgewicht van de dieren in de groep waar de effectiviteit lager was (26% drachtig) tijdens de studie geleidelijk was gestegen. Van de onbehandelde runderen werd 60-100% drachtig, afhankelijk van locatie. Het aantal dagen tot de eerste conceptie was 336 in de 12 mg-groep en 224 en 231 dagen in de 8 mg-groepen, wat aangeeft dat de hoge dosis langer effectief was in het voorkomen van bevruchting. Er werden geen verschillen gevonden in lichaamsgewicht van behandelde en onbehandelde dieren. Verdere gezondheidseffecten werden niet gemeld.

#### 4.2 Evaluatie chemocontraceptie

Om verschillende redenen heeft een groot deel van het onderzoek naar chemocontraceptie niet geleid tot de ontwikkeling van bruikbare middelen voor in het wild levende hoefdieren. Een deel van de middelen, bijvoorbeeld die hormonen als testosteron, oestradiol en progesteron bevatten, is slechts effectief in grote doses of bij herhaalde toediening, wat het gebruik in veldsituaties bemoeilijkt<sup>12,80,105</sup>. Het gebruik van controlled-release middelen of implantaten kan het probleem van herhaalde toediening oplossen, maar alleen voor middelen die kleine doses nodig hebben om effectief te zijn. Chirurgische procedures om implantaten toe te dienen zijn in de meeste gevallen niet wenselijk vanwege de hoge arbeidskosten, het gebruik van verdovende middelen en het risico dat dieren gewond raken tijdens de vangst<sup>105</sup>. Implantaten die op afstand door biokogels kunnen worden toegediend zijn daarom een betere optie.

Naast praktische bezwaren zijn ook de bijwerkingen van sommige chemische contraceptiemiddelen een reden om van het gebruik ervan af te zien. DES bijvoorbeeld is een middel dat het geboortecijfer met 80% kan terugbrengen, maar waarvan de bijeffecten, zoals verminderde voedselinname<sup>40</sup>, ontstekingsreacties aan de melkklieren<sup>40</sup>, verschuivingen in de sekseratio van het nageslacht<sup>77</sup> en veranderde secundaire geslachtskenmerken (groei van een gewei)<sup>77</sup>, voor veel beheerders onacceptabel zullen zijn. Ook het gebruik van levonorgestrel wordt afgeraden vanwege de geringe effectiviteit van het middel en de ernstige bijwerkingen<sup>115</sup>. Het abortivum prostaglandrin F2 $\alpha$  kan geboortecijfers terugbrengen tot 0% en heeft voor zover bekend geen negatieve effecten op de gezondheid van behandelde dieren<sup>26</sup>. Toediening van PF2 $\alpha$  aan het einde van de bronsttijd, zoals voorgesteld door de onderzoekers<sup>26</sup>, zal de dracht in een laat stadium beëindigen en het is de

vraag of een dergelijke methode gewenst is en publiekelijk geaccepteerd zal worden. Waarschijnlijk wordt de voorkeur gegeven aan middelen die bevruchting voorkomen of de dracht in een vroeg stadium beëindigen.

Binnen de groep van steroïden lijkt het progestageen norgestomet het meeste potentieel te hebben als effectief contraceptiemiddel. In zwart- en witstaartherten werd in 90-100% van de hinds bevruchting voorkomen en na een jaar was de vruchtbaarheid hersteld, wat aangeeft dat de werking van het middel omkeerbaar is<sup>25,48</sup>. Door middel van biokogels kan norgestomet gemakkelijk van afstand toegediend worden<sup>25</sup>, maar er is meer onderzoek nodig om kogels te ontwikkelen die minder pijn en letsel veroorzaken<sup>48</sup>. Er werden geen negatieve effecten van norgestomet op de gezondheid gemeld, maar beide studies waren hier ook niet op gericht. Voordat dit middel kan worden aangeraden aan beheerders voor gebruik bij wild zouden de gezondheidseffecten grondiger onderzocht moeten worden, zowel als mogelijke effecten op het gedrag van behandelde dieren.

Een belangrijke kwestie echter betreffende synthetische steroïden is de resistentie van deze middelen tegen biologische afbraak, en de persistentie in weefsel. Dit baart zorgen wat betreft vervuiling van het milieu en overdracht via de voedselketen<sup>37,61,80</sup>. Vooral bij soorten die door mensen worden gegeten, zoals everzwijn, hert of ree, is het risico van overdracht van contraceptiemiddelen naar mensen niet ondenkbaar. Sommige onderzoekers raadden een periode van minstens 30 dagen aan tussen injectie met steroïden en consumptie, maar deze regel is onbruikbaar bij controlled-release implantaten of middelen<sup>37</sup>. En zelfs al zou menselijke consumptie van behandelde dieren verhinderd kunnen worden, dan nog is de overdracht aan vlees- en aaseters onmogelijk te voorkomen. Daarom vinden de meeste onderzoekers het gebruik van steroïden voor contraceptie tegenwoordig onwenselijk, en zal toestemming voor het gebruik van deze middelen waarschijnlijk moeilijk te verkrijgen zijn<sup>25,61,107</sup>.

Chemische middelen die het nadeel van onafbreekbaarheid niet hebben maar wel een hoge effectiviteit hebben zijn GnRH-agonisten. Dit zijn peptides, een soort kleine eiwitten, die afbreekbaar zijn en daardoor geen gevaar vormen voor het milieu en niet overgedragen kunnen worden via de voedselketen<sup>3</sup>. ATRIGEL<sup>®</sup> en andere leuprolidemiddelen waren 100% effectief in het voorkomen van bevruchting gedurende één bronsttijd in muilnier- en edelherten en het effect was omkeerbaar na kortdurend gebruik<sup>2,3,4,18</sup>. Reproductief en ander gedrag werd niet beïnvloed door leuprolide behandeling en ook de bloedwaarden waren vrijwel identiek aan die van onbehandelde dieren<sup>3,18</sup>. Het enige nadelige effect dat werd gevonden was een slechtere lichaamsconditie van behandelde edelherten tijdens de winter vergeleken met onbehandelde, drachtige hinds<sup>18</sup>. Waarschijnlijk werd dit veroorzaakt door de invloed van hormonen die tijdens de dracht geproduceerd worden op voedselinname, vetopslag en gewicht. Bij de muilnierherten behandeld met leuprolide<sup>3</sup> en de runderen behandeld met deslorelin<sup>27</sup> werden geen verschillen in lichaamsgewicht gevonden. Of de verslechterde conditie na leuprolidebehandeling vaker in deze mate op zal treden en of dit nadelig is voor het overleven van de dieren zal in verdere experimenten verduidelijkt moeten worden. Daarnaast zijn er studies nodig die de gezondheidseffecten van leuprolide of deslorelin op de lange termijn onderzoeken.

De meeste hoefdieren paren alleen gedurende een bepaald seizoen, en de tijd van toediening van controlled-release middelen is dan ook van groot belang voor de effectiviteit.

GnRH agonsiten moeten enige tijd voor het begin van de bronsttijd toegediend worden en werkzaam zijn tot de bronst voorbij is<sup>4,18</sup>. Leuprolidemiddelen zijn werkzaam in kleine hoeveelheden, wat het mogelijk maakt om ze van een afstand met darts toe te dienen. Darten bleek even effectief te zijn als injectie met de hand<sup>4</sup>, hoewel de herten in deze studie eerst gevangen werden en de schotafstand erg klein was (3 m). Ook bleek een vrij groot gedeelte van de darts niet geheel te ontladen. De ontwikkeling van darts die beter geschikt zijn voor dit middel is dus gewenst, of een aanpassing van de leuprolidemiddelen, bijvoorbeeld door de viscositeit te verlagen of nog kleinere doses te gebruiken<sup>4</sup>. De laagst toegediende dosis van 22.6 mg was even effectief als de gehele dosis (32.5 mg), wat aangeeft dat de minimum effectieve dosis voor edelherten waarschijnlijk lager ligt dan de hoeveelheid die gebruikt werd in deze studie<sup>4</sup>.

Een nadeel van leuprolide is de relatief hoge kostprijs. Eén behandeling kost \$150-200 per dier, dat is 6 tot 8 keer zoveel als bijvoorbeeld PZP (zie 5.2), maar kan wellicht iets omlaag gebracht worden als er lagere doses gebruikt worden. Een ander nadeel kan zijn dat GnRH-agonisten soms eerst een sterk stimulerend effect hebben op de hormoonconcentratie van LH (de 'acute fase') die enkele dagen tot weken kan duren en spontane oestrus kan veroorzaken, voordat de hormoonconcentraties onderdrukt worden<sup>43</sup>. Echter in de studie aan edelherten duurde de piek in het niveau van LH slechts enkele uren. Na 16 uur was LH terugggevallen tot minimale concentraties, zonder oestrus te veroorzaken<sup>4</sup>. Dit geeft de suggestie dat het optreden van een acute fase in de praktijk geen beletsel hoeft te vormen voor het gebruik van leuprolide.



*Edelherten op de Veluwe.*

## 5. Immunocontraceptie

Eind jaren '80 startte het onderzoek naar een nieuwe categorie contraceptiemiddelen die er veelbelovend uitzag voor toepassing bij in het wild levende dieren<sup>105</sup>. Immunocontraceptie is gebaseerd op hetzelfde principe als vaccinatie tegen ziekten: door een antigeen te injecteren wordt het immuunsysteem gestimuleerd om antistoffen aan te maken\*. Om onvruchtbaarheid te bereiken is het antigeen dat geïnjecteerd wordt een eiwit of hormoon dat een belangrijke rol speelt bij de voortplanting. Door de immunoreactie wordt dit eiwit of hormoon in het lichaam van het behandelde dier geïnactiveerd en daarmee het reproductieproces verstoord<sup>57</sup>. Er bestaan verschillende immunocontraceptievaccins, die zich richten tegen eiwitten van een sperma- of eicel of tegen hormonen die de reproductie reguleren, zoals oestrogeen, progesteron, gonadotropin-releasing hormoon (GnRH), luteïniserend hormoon (LH) en follikelstimulerend hormoon (FSH). In het onderzoek naar immunocontraceptie bij hoefdieren heeft men zich met name gericht op immunisatie tegen GnRH en eiwitten van de eicel<sup>105</sup>.

### 5.1 Immunisatie tegen GnRH

Zoals vermeld in sectie 4.1.5 speelt GnRH een belangrijke rol bij de voortplanting door de regulatie van de hormonen LH en FSH. Naast behandeling met GnRH-agonisten kan het functioneren van GnRH worden belemmerd door immunisatie. De aanmaak van LH en FSH wordt gestimuleerd wanneer GnRH-moleculen zich binden aan specifieke receptoren in de hypofyse. Een GnRH-molecuul waar antistoffen aan gebonden zijn kan zich niet meer binden aan de receptoren waardoor de productie van FSH en LH wordt geremd<sup>43</sup>. Als gevolg daarvan worden de rijping van follikels, ovulatie en reproductief gedrag onderdrukt<sup>31</sup>. Zolang het niveau van antistoffen voldoende hoog is om de functie van GnRH te onderdrukken blijft het dier in een niet-reproductieve staat.

Door het lage moleculaire gewicht van GnRH en het feit dat het hormoon aan alle zoogdieren lichaamseigen is, is het slechts een zwak antigeen<sup>43</sup>. Om een immunoreactie te stimuleren wordt GnRH daarom gebonden aan een 'dragermolecuul', meestal het eiwit *keyhole limpet hemocyanin* (KLH) dat gewonnen wordt uit een schelpdier, de Californische reuzengathoren (*Megathura crenulata*)<sup>83</sup>. Daarnaast dient een GnRH-vaccin gemengd te worden met een adjuvant, een stof die het immuunsysteem stimuleert, om een immunoreactie van voldoende sterkte op te wekken om onvruchtbaarheid te veroorzaken. Een vaak gebruikt GnRH-vaccin is het *GonaCon immunocontraceptive vaccine*, ontwikkeld door het National Wildlife Research Centre (Fort Collins, Colorado, VS), dat momenteel in de VS in het registratieproces is bij de US Environmental Protection Agency voor toepassing bij in het wild levende herten<sup>31</sup>. Hieronder worden de onderzoeken beschreven die zijn gedaan naar GnRH-immunisatie van herten, everzwijnen en paarden.

---

\* Een antigeen is een molecuul dat een afweerreactie van het immuunsysteem veroorzaakt waarbij antistoffen worden aangemaakt. Als antistoffen binden aan het antigeen is dat een signaal voor het immuunsysteem om het antigeen af te breken, of het antigeen verliest door de vormverandering zijn functie.

### 5.1.1 GnRH-immunisatie bij witstaartherten

In een beperkte studie met witstaartherten werd een vroege vorm van een GnRH-vaccin getest (GnRH analogoovalbumine conjugaat) in combinatie met het adjuvant diethylaminoethyl (DEAE)-dextran oplossing, maar dit bleek niet effectief in het voorkomen van dracht<sup>†</sup>. Ondanks dat er vier inentingën gegeven werden in het eerste jaar werden de oestruscycli van slechts twee van de vier hindses verstoord. Een boostervaccin† het volgende jaar zorgde niet voor een toename in de concentratie antistoffen in het bloed en alle vier de hindses kwamen in oestrus.

In een andere studie met witstaartherten werden acht hindses onderhuids geïnjecteerd met een GnRH-vaccin, door de onderzoekers zelf samengesteld uit GnRH gekoppeld aan KLH-moleculen<sup>81</sup>. De hindses kregen een eerste vaccinatie van 500 µg GnRH-KLH in 500 ml zoutoplossing en 500 ml Freund's Complete Adjuvant (FCA). Na één maand en na één jaar werd een boostervaccinatie gegeven van 300 µg GnRH-KLH in 500 ml zoutoplossing en 500 ml Freund's Incomplete Adjuvant (FIA). Het vaccin werd onderhuids geïnjecteerd op verschillende plekken tussen de schouderbladen. Over een periode van vier jaar werd een reductie van 88% bereikt in het aantal geboortes bij behandelde hindses in vergelijking met onbehandelde dieren. In het derde jaar daalden de concentraties antistoffen in het bloed van de behandelde hindses en zeven van de acht hadden een positieve echografie. Toch kreeg slechts één van hen een kalf dat jaar. Waarschijnlijk waren de concentraties antistoffen in het bloed op een niveau dat er voldoende LH werd afgegeven om bevruchting mogelijk te maken, maar kon het gele lichaam niet voldoende progesteron produceren om de dracht te volbrengen. Hoewel alle hindses reageerden op het GnRH-vaccin waren er individuele verschillen in de sterkte van de reactie en de bereikte concentratie van antistoffen, wat vermoedelijk berustte op genetische verschillen tussen de dieren. De vaccinatie resulteerde niet in een verlenging van de bronsttijd.

Een studie uit 2008 heeft de effectiviteit van het veelgebruikte GonaCon vaccin (met dragermolecuul KLH) vergeleken met het nieuw ontwikkelde GonaCon-B<sup>83</sup>. In GonaCon-B is het dragermolecuul het voordeliger *blue protein hemocyanin*, gewonnen uit een ander schelpdier (*Concholepas concholepas*). Het effect van drie vaccinatieprogramma's werd gemeten over een periode van vijf jaar: eenmalige inenting met GonaCon-B in jaar één, eenmalige inenting met GonaCon-KLH in jaar één en twee inentingën met GonaCon-KLH in jaar één. Vanwege de bijwerkingen van FCA (zie 5.3) werd het nieuwe adjuvant AdjuVac gebruikt. In elk vaccin waren Adjuvac en het GnRH-dragermolecuulcomplex gemengd in een verhouding van 1:1. Uit de resultaten bleek dat GonaCon-B effectiever en langer werkzaam was dan GonaCon-KLH. Van de vijf hindses die één injectie met 1000 µg GonaCon-B vaccin kregen was 100% onvruchtbaar in het eerste en tweede jaar en 80% in jaar 3, 4 en 5. Eén injectie met 850 µg GonaCon-KLH maakte alle vijf hindses onvruchtbaar in het eerste jaar, maar het percentage zakte naar 60% en minder in de opvolgende jaren. Toediening van twee injecties van 1000 µg GonaCon-KLH in het eerste jaar was effectiever dan toediening van één injectie, maar nog steeds minder effectief dan GonaCon-B met 100%

---

<sup>†</sup> Een boostervaccin wordt toegediend nadat de afweer is opgebouwd. Na de eerste vaccinatie daalt de concentratie antilichamen in het bloed na verloop van tijd en een boostervaccin versterkt de afweer opnieuw. De hoeveelheid antigeen in een boostervaccin is meestal lager dan bij het primaire vaccin en er kan een minder sterk adjuvant worden gebruikt.

van de 5 hinds onvruchtbaar in de eerste twee jaar, 80% in jaar 3 en 60% in jaar 4.

Na een aantal experimenten met witstaartherten uit gevangenschap werd GonaCon (de KLH-variant) met Adjuvac getest in een veldexperiment<sup>36</sup>. Na een intramusculaire injectie met 1,0 ml GonaCon plus AdjuVac werd 12% van de 26 hinds drachtig het eerste jaar, vergeleken met 85% van 15 onbehandelde dieren. Zonder toediening van een boostervaccin werd 53% van de behandelde hinds drachtig in het tweede jaar, en 100% van de onbehandelde hinds. In een vergelijkbare veldstudie gedaan door dezelfde onderzoekers werd 33% van de 26 behandelde hinds drachtig het eerste jaar, en 48% het tweede jaar (zonder boostervaccinatie)<sup>36</sup>. Na afloop van het onderzoek werden 19 hinds gevangen en onderzocht voor mogelijke effecten van GonaCon op de gezondheid van de dieren. Bij de autopsie werden hersenen, hypofyse, ovaria, hart, longen, nieren, milt, darmen, lymfeklieren en melkklieren onderzocht en geen afwijkingen gevonden. Bij vijf hinds werden op de plek van injectie abcessen of nodules (verharde structuren onder de huid) gevonden, variërend in grootte van 3 tot 150 cm<sup>3</sup>. In alle vijf gevallen ging dit gepaard met chronische ontsteking en necrotiserende myositis, een ernstige en zeer pijnlijke infectie die leidt tot het afsterven van weefsel en dodelijk kan zijn<sup>95</sup>. Geen van deze reacties was zichtbaar bij extern onderzoek, omdat de reacties inwendig hadden plaatsgevonden op de plek waar het vaccin in de spier geïnjecteerd was.

### 5.1.2 GnRH-immunisatie bij everzwijnen

Twee verschillende doses van een langwerkend GnRH-vaccin (door de onderzoekers samengesteld uit GnRH gekoppeld aan KLH-moleculen) werden getest op everzwijnen (*Sus scrofa*) in combinatie met Adjuvac adjuvant<sup>50</sup>. Na 12 weken hadden de elf zeugen die de lage dosis van 1000 µg hadden gekregen vergelijkbare concentraties van antistoffen in hun bloed als de elf zeugen die de hoge dosis van 2000 µg hadden gekregen. Echter, na 36 weken waren de concentraties in de 2000 µg-groep beter op niveau gebleven dan die in de 1000 µg-groep. Vergeleken met onbehandelde zeugen vormden de behandelde dieren minder vaak een geel lichaam en waren de progesteronconcentraties in het bloed lager. Geen van de zeugen van de 2000 µg-groep was drachtig na negen maanden, 22% van de zeugen in de 1000 µg-groep en 100% van de vijf onbehandelde zeugen.

Een volgend onderzoek testte opnieuw de effectiviteit van het GonaCon-vaccin bij everzwijnen<sup>75</sup>. In augustus werden zes zeugen ingeënt met 1000 µg GonaCon en AdjuVac, en vergeleken met zes onbehandelde zeugen die alleen het adjuvant hadden gekregen. 100% van de onbehandelde en 0% van de behandelde zeugen wierp jongen het volgende jaar. In april het volgende jaar werd een identieke tweede test gedaan, om de concentraties antistoffen in beide groepen te vergelijken. De concentraties verschilden significant tussen de augustus- en aprilgroep, en waren het hoogste in de augustusgroep. Gedurende beide tests werd de sociale orde in de groep zeugen bijgehouden door te noteren welke zeugen agressief gedrag vertoonden of ontvingen, en het bleek dat de sociale rang van behandelde en onbehandelde zeugen niet veranderde in de vier maanden na vaccinatie. Dit geeft een indicatie dat wanneer GonaCon wordt toegepast bij in het wild levende everzwijnen, de sociale stabiliteit van een populatie niet zal worden aangetast. Ook de hoeveelheid tijd die behandelde en onbehandelde zeugen besteedden aan activiteiten als foerageren, lopen, staan, over de grond rollen en rusten verschilde niet tussen behandelde en onbehandelde

dieren. Metingen aan 24 chemische en hematologische bloedwaarden toonden geen verschillen. Het enige effect dat in beide tests werd waargenomen was een sterkere toename in lichaamsgewicht van behandelde zeugen vergeleken met onbehandelde zeugen. Het uiteindelijke verschil in gewicht bedroeg gemiddeld 4 kg.

### 5.1.3 GnRH-immunisatie bij wilde paarden

Drie studies hebben de effecten onderzocht van GnRH-vaccinatie bij wilde paarden (*Equus caballus*). Vijftien in het wild levende merries kregen een eenmalige injectie met GonaCon in de nek en werden 4 jaar gevolgd<sup>51</sup>. Elf van hen kregen 1800 µg GonaCon-vaccin en vier 2800 µg, allebei toegediend met AdjuVac adjuvant. Over de laatste drie jaren van het onderzoek namen de concentraties van antistoffen in het bloed significant af. Er was individuele variatie in de sterkte van de immuunreactie, en de antistofconcentraties van merries die onvruchtbaar bleven tijdens het onderzoek waren significant hoger dan die van merries die wel drachtig werden. In jaar 1 t/m 4 was het percentage onvruchtbare merries 94%, 64%, 57% en 43% respectievelijk.

Een ander GnRH-vaccin genaamd Equity (Pfizer Animal Health P/L, West Ryde, NSW, Australië) werd getest op vierentwintig in gevangenschap levende merries<sup>30</sup>. Equity is een mengsel van aan dragermoleculen gebonden GnRH en een 'immunostimulerend complex' bestaande uit Saponin Quil A, cholesterol en dipalmitoylfosfatidycholine. Elke dosis bevatte 200 µg GnRH, 300 µg immunostimulerend complex en 0,01% thiomersal, aangevuld met ioniserende buffer tot een volume van 1 ml. De paarden kregen een eerste intramusculaire injectie in de nek, gevolgd door een tweede injectie 28 dagen na de eerste. De behandeling was effectief in het tegengaan van oestrusgedrag, maar de duur van het effect was erg variabel. Twee weken na de tweede inenting werd een piek in de antistofconcentratie gemeten, die vervolgens over twintig weken langzaam afnam. De progesteron- en oestradiolconcentraties van behandelde merries waren significant verminderd, zowel als de grootte van de ovaria. Inactiviteit van de ovaria duurde 6 tot 28 weken in tien merries, zes andere merries kwamen niet meer in oestrus dat seizoen. Reproductief gedrag van de behandelde merries was significant verminderd voor een duur van 12 tot 29 weken. Bij acht van de vierentwintig merries was een zwelling waarneembaar op de plek van injectie, en drie andere hadden een voelbare maar niet zichtbare reactie.

In een groot onderzoek werden 55 in gevangenschap levende merries van verschillende rassen ingeënt met 2 ml Improvac GnRH-vaccin (Pfizer Animal Health, Sandton, Zuid-Africa) in de gluteale spieren, gevolgd door een tweede injectie van 2 ml na 35 dagen<sup>12</sup>. Op dag 35 na de eerste inenting toonden alle tien onbehandelde merries en acht (14,5%) van de behandelde merries activiteit van de ovaria, gebaseerd op progesteronconcentraties en de aanwezigheid van grote follikels en een geel lichaam. Op dag 70 na de eerste inenting toonden alle onbehandelde en geen van de behandelde merries activiteit van de ovaria. Het volume van de ovaria van behandelde merries was significant verminderd. De concentraties progesteron in het bloed daalden tot een zeer laag niveau en dit bleef zo tot dag 175, toen men stopte met het afnemen van bloed. Behandelde merries kwamen niet in oestrus tot ten minste 175 dagen na behandeling. Dat een klein percentage van de merries op dag 35 nog wel actieve ovaria had berustte waarschijnlijk op verschillen in de fase van de oestruscyclus op het moment van vaccinatie.



## 5.2 Immunisatie tegen de zona pellucida

Een groot deel van het onderzoek naar immunocontraceptie bij hoefdieren heeft zich gericht op immunisatie tegen de zona pellucida, het eiwitmembraan dat om een eikel ligt. Bepaalde receptoreiwitten op de zona pellucida binden spermacellen zodat deze door de wand van de eikel kunnen dringen om de eikel te bevruchten. Deze receptoreiwitten zijn het doelwit van immunocontraceptie<sup>54</sup>. Wanneer zonae pellucidae (ZP) bij een dier geïnjecteerd worden stimuleert dit de productie van anti-ZP antistoffen<sup>110</sup>. Deze antistoffen binden aan de ZP van een geövuleerde eikel en blokkeren daar de hechting van spermacellen, zodat bevruchting voorkomen wordt<sup>70</sup>. Net als GnRH is ZP een zwak antigeen en succesvolle contraceptie berust op de toevoeging van een adjuvant<sup>20</sup>. In de eerste studie naar ZP-immunisatie bij hoefdieren werd gebruik gemaakt van ZP afkomstig van varkens, oftewel porcine zona pellucida (PZP)<sup>70</sup>. Veertien merries werden geïnjecteerd met PZP gewonnen uit varkensovaria, en reproductie werd voorkomen in 86% van de merries. Immunisatie met PZP bleek effectiever dan immunisatie met soorteigen ZP en in opvolgend onderzoek is het gebruik van PZP de standaard geworden voor veel verschillende diersoorten.

Er volgden vele kleine studies met allerlei soorten hoefdieren, waarvan de meeste positieve resultaten boekten (zie ook Bijlage I). Drie Przewalski paarden (*Equus przewalski*) en drie banteng runderen (*Bos javanicus*) die 65 µg PZP kregen werden niet drachtig in de 36 maanden na behandeling<sup>57</sup>. De effectiviteit van PZP was hoog in sikahert (*Cervus nippon*), Himalayatahrgeit (*Hemitragus jemlahicus*) en Roosevelt-wapiti (*Cervus elaphus roosevelti*), middelmatig in axishert (*Cervus axis*) en laag in sambarhert (*Cervus unicolor*)<sup>58</sup>. Geen van achttien wilde merries die drie injecties met PZP kregen werd drachtig het volgende jaar, en één van de acht merries die twee injecties kregen werd drachtig<sup>54</sup>. In damhert (*Dama dama*), witstaarthert en edelhert werd het geboortecijfer gereduceerd tot 0% na behandeling met PZP<sup>23,42,107,108</sup>. Na PZP-behandeling kreeg één van de zestien (6%) wilde ezels een veulen of was drachtig na 12 maanden, vergeleken met zes van de elf (55%) onbehandelde ezels<sup>109</sup>. Geen van de vier ezels die een jaar na de eerste inenting een boostervaccin kregen werd drachtig in de volgende 12 maanden.

Het vaccineren met PZP bleek dus in veel gevallen zeer effectief in het voorkomen van dracht. Een nadeel was dat een voldoende hoog antistofniveau pas bereikt werd na de tweede (of soms derde) inenting. Het eerste vaccin zorgt voor herkenning van het antigeen in het lichaam van behandelde dieren, en het tweede resulteert pas in verhoging van de concentratie antistoffen<sup>54,82,107,110</sup>. Om direct in het eerste jaar al onvruchtbaarheid te bereiken moeten deze twee inenting met een tussenpoos van enkele weken voor het begin van de bronst toegediend worden. De tweede inenting kan echter ook na enkele maanden of een jaar gegeven worden, om contraceptie te bieden voor het volgende seizoen. Dat een enkele injectie onvoldoende bescherming biedt bleek bijvoorbeeld uit het eerste veldexperiment met witstaartherten, waarin de toediening van twee injecties binnen vier weken in volledige contraceptie resulteerde, terwijl de toediening van één injectie geen effect had op het drachtpercentage (78% van de behandelde en 82% van de onbehandelde hinds)<sup>78</sup>.

Om het gebruik van PZP voor in het wild levende dieren praktischer te maken werd het gebruik van controlled-release technieken onderzocht. Eén zo'n techniek is het samenstellen van *microspheres* of microbolletjes, die bestaan uit een homogeen mengsel van het

contraceptiemiddel en een biologisch afbreekbaar materiaal<sup>110</sup>. Door contact met vloeistoffen in het lichaam wordt dit materiaal afgebroken wanneer de microbolletjes in het lichaam van een dier terecht komen, en komt het contraceptiemiddel vrij over een vooraf bepaalde periode. Op deze manier kunnen twee injecties in één keer gegeven worden, omdat het vaccin dat na enkele weken uit de microbolletjes vrijkomt fungeert als tweede inenting. Enkele tests met PZP in microbolletjes toonden aan dat deze methode minder effectief was dan de toediening van twee aparte injecties. Bij wilde paarden was de effectiviteit 95,5% in de groep van 44 merries die twee aparte inenting hadden gekregen, 71% in de groep van 14 merries die een enkele inenting hadden gekregen en 80% in de groep van 15 merries die microbolletjes hadden gekregen<sup>110</sup>. Bij wilde ezels was de effectiviteit van een injectie met microbolletjes 66% (één van drie ezels kreeg een veulen) en 100% bij dertien ezels die twee aparte inenting kregen<sup>109</sup>. In witstaartherten was de effectiviteit van microbolletjes nog lager, met geen enkele reductie in het aantal geboorten in het eerste jaar, en een matige reductie in het tweede jaar na het toedienen van een boostervaccin<sup>79</sup>.

Nadat de samenstelling van de microbolletjes werd aangepast zodat ze een adjuvant (carbopol) gingen bevatten en de PZP in één grote puls werd afgegeven in plaats van in continue kleine hoeveelheden kon de techniek een tweede injectie vervangen<sup>111</sup>. Het percentage onvruchtbare merries was 11,3% in de groep van 93 dieren die de microbolletjes kreeg, vergeleken met 12,8% in de groep van 78 dieren die twee aparte injecties kreeg en 62,5% van de 72 merries die geen behandeling hadden ondergaan<sup>111</sup>. De injectie van microbolletjes bleek echter problemen te geven omdat de bolletjes de injectienaald verstopten. Dit leidde tot de ontwikkeling van vaccinbevattende pellets, bestaande uit een homogeen mengsel van de polymeren lactide en glycolide, PZP, adjuvant (QS-21 of QA-21) en kleurstof, die met een speciale methode in een cilindrische vorm van 0,6 bij 1,6 mm geperst werden<sup>112</sup>. Afhankelijk van de polymeersamenstelling van de pellets kunnen vaccin en adjuvant vrijkomen na één, drie of twaalf maanden<sup>112</sup>. Deze PZP-pellets kunnen goed geïnjecteerd worden maar helaas is de toediening door middel van darts niet geheel betrouwbaar. Momenteel beschikbare darts kunnen niet snel genoeg of niet voldoende druk leveren om zowel het primaire vaccin als twee pellets in de spier te injecteren, zodat er vaccin in de dart achterblijft of gedeeltelijk uit de spier terugstroomt. Bij wilde paarden was de effectiviteit van een injectie met PZP-vaccin met pellets waaruit na één en drie maanden vaccin vrijkwam daarom hoger wanneer het met de hand werd geïnjecteerd (88%) dan met darts (75%)<sup>112</sup>. De huidige ontwikkeling van aangepaste darts zal hiervoor hopelijk op termijn een oplossing bieden<sup>112</sup>.

Ook het middel SpayVac, vaak gebruikt in combinatie met AdjuVac, werd ontwikkeld om met slechts één inenting meerdere jaren contraceptie te bieden (ImmunoVaccine Technologies Inc., Halifax, Nova Scotia, Canada). SpayVac bestaat uit PZP dat is ingekapseld in liposomen, gevormd van L- $\alpha$ -lecithine van de sojaboon en cholesterol in een 9:1 ratio<sup>32</sup>. Het vaccin werd ontwikkeld door onderzoekers die het als eerste testten bij de grijze zeehond (*Halichoerus grypus*), waarbij een contraceptieniveau van 90% bereikt werd over een periode van tien jaar<sup>15</sup>. Bij 22 damherten werd met een enkele dosis (100  $\mu$ g SpayVac liposomen in 0,5 ml zoutoplossing, gemengd met 0,5 ml FCA) bevruchting voorkomen in alle hinds voor een minimum van drie jaar<sup>32</sup>. Na deze periode stopte het onderzoek, maar antistofconcentraties waren nog steeds hoog en het middel zou waarschijnlijk nog enkele

jaren werkzaam zijn. Bij witstaartherten was één behandeling met SpayVac (200 µg SpayVac liposomen in 0,5 ml zoutoplossing en 0,5 ml AdjuVac adjuvant), toegediend 30 dagen voor de bronsttijd, 100% effectief in het voorkomen van dracht in 38 hinds over een studieperiode van één jaar<sup>44</sup>, en in 31 andere hinds over twee jaar<sup>71</sup>. Bij twaalf wilde merries gaf SpayVac 100% contraceptie in het eerste jaar en 83% in jaar twee, drie en vier<sup>51</sup>. In deze studie werd waargenomen dat 70-100% van de met SpayVac behandelde merries oedeem in de baarmoeder had. Dit is normaal gedurende 5 tot 7 dagen van de 21 dagen durende oestruscyclus, wat het verwachte percentage brengt op 25-30%, veel minder dan de 70-100% die werd waargenomen. Baarmoederoedeem ontstaat tijdens de oestruscyclus als de progesteronconcentratie laag is. Waarschijnlijk produceerden de merries die met SpayVac waren behandeld weinig progesteron omdat er geen geel lichaam gevormd werd en veroorzaakte dit langdurig baarmoederoedeem.

### 5.3 Adjuvants

Alle immunocontraceptievaccins hebben een adjuvant nodig om een immuunreactie van voldoende sterkte op te wekken om reproductie tegen te gaan. Het gebruik van adjuvants gaat echter vaak gepaard met weefselreacties op de plek van injectie. Het adjuvant diethylaminoethyl (DEAE)-dextran bijvoorbeeld veroorzaakte bij witstaartherten lokale weefselreacties van uiteenlopende grootte en variërend in ernst, zoals ontstekingen, etterende wonden, kaalheid, erythema (onderhuidse zwelling door ontsteking van het vetweefsel) en necrose (afsterven) van de huid en onderliggend weefsel<sup>10</sup>.

Freund's Complete Adjuvant (FCA) was één van de eerste adjuvants en omdat het ook één van de meest effectieve is, wordt het veel gebruikt bij immunocontraceptie. Negatieve gezondheidseffecten zijn regelmatig gerapporteerd, voornamelijk abscessen, nodules en zwellingen<sup>54,57,107,108</sup> en één studie noemt lamheid van het geïnjecteerde ledemaat<sup>57</sup>. Daarnaast is FCA potentieel kankerverwekkend<sup>83</sup>. Andere studies melden geen negatieve effecten van FCA<sup>32,110,111</sup> of slechts minimale effecten, zoals bij een grootschalig PZP-vaccinatieprogramma van wilde paarden waarbij slechts drie paarden abscessen kregen na 381 behandelingen (0,007%)<sup>73</sup>. Echter, weefselreacties worden waarschijnlijk niet altijd gedetecteerd door visuele observatie (zie hieronder).

In sommige gevallen speelt een ander nadeel van FCA, namelijk het veroorzaken van vals-positieve uitkomsten van tuberculostesten door de aanwezigheid van celfragmenten van de bacterie *Mycobacterium tuberculosis* in het adjuvant<sup>23</sup>. Mede met het oog op dit probleem werd Freund's Modified Adjuvant (FMA) ontwikkeld, dat als immunostimulerend ingrediënt de celfragmenten van *Mycobacterium butyricum* bevat en geen vals-positieve tuberculose testen veroorzaakt. FMA bleek even effectief als FCA bij immunocontraceptie met PZP<sup>73</sup> en wordt sinds 2000 vaak gebruikt als alternatief voor FCA<sup>65</sup>. Eventuele reacties op de plek van injectie lijken hetzelfde als bij gebruik van FCA<sup>73</sup>. Na initiële inenting met een immunocontraceptie vaccin met FCA of FMA wordt voor de opvolgende boostervaccinaties bijna altijd Freund's Incomplete Adjuvant (FIA) gebruikt. Dit is dezelfde water-in-olie emulsie als FCA, maar bevat geen celfragmenten van bacteriën. Hoewel het gebruik van FIA ook abscessen kan veroorzaken zijn deze minder ernstig dan na toediening van FCA. Voor de

initiële vaccinatie is FIA in de meeste gevallen een te zwak adjuvant, maar als boostervaccin is het zeer geschikt.

Ook mensen die met FCA werken lopen risico's voor hun gezondheid. Onbedoelde zelfinjectie veroorzaakt een zeer pijnlijke chronische ontsteking die moeilijk met antibiotica te behandelen valt en in sommige gevallen leidt tot necrotiserende wonden die chirurgisch verwijderd moeten worden<sup>17</sup>. Spatten van FCA in het oog, bijvoorbeeld tijdens vaccinpreparatie, kan ernstige irritatie en zelfs blindheid veroorzaken. Het Institutional Animal Care and Use Committee van de Iowa State University beschouwt het gebruik van FCA als een pijnlijke procedure voor het behandelde dier en raadt het gebruik ervan af<sup>47</sup>. Er zijn vele alternatieve adjuvants, maar slechts weinig daarvan zijn getest voor gebruik bij immunocontraceptie van hoefdieren<sup>69</sup>. Carbopol is een alternatief adjuvant dat wel getest is bij hoefdieren, en hoewel het even effectief was als FCA bij PZP-immunisatie van wilde paarden<sup>111</sup> bleek het bij witstaartherten beduidend minder goede resultaten te geven dan FCA<sup>99</sup>. Ook AdjuVac, dat de bacterie *Mycobacterium avium* bevat, is een alternatief voor FCA, maar ook na behandeling met dit adjuvant en GonaCon vertoonde ruim een kwart van de 19 herten ernstige reacties op de plek van injectie (chronische ontsteking en necrotiserende myositis)<sup>36</sup>. Het feit dat deze reacties niet zichtbaar waren tot er autopsie werd gedaan geeft aan dat in studies waar dieren alleen extern worden bekeken de ernst en frequentie van letsel waarschijnlijk vaak onderschat wordt.

Adjuvants die een sterke reactie van het immuunsysteem opwekken maar niet schadelijk zijn voor behandelde dieren zijn momenteel niet beschikbaar. Om gezondheidsrisico's zo veel mogelijk te beperken zijn er wel enkele richtlijnen gegeven, gebaseerd op de bevinding dat zowel de plek van inenting als de hoeveelheid en kwaliteit van adjuvant en vaccin van invloed zijn op de ernst van eventuele ontstekingsreacties<sup>39</sup>. Het is aan te raden om injecties toe te dienen in de bil- of heupregio, omdat bij paarden is gebleken dat abscessen en andere negatieve reacties in dat geval minder vaak optraden dan na bijvoorbeeld injectie in de nek<sup>73</sup>. Om de kwaliteit goed te houden is het belangrijk dat het adjuvant voor toediening goed gemixt wordt om de water- en oliebestanddelen te laten homogeniseren, en dat antistof en adjuvant goed gemengd zijn en steriel gehouden worden<sup>39</sup>. Weefselreacties kunnen beperkt worden door een adjuvant te kiezen of te bereiden met een lagere concentratie bacteriebestanddelen (de standaardconcentratie is 1 mg/ml)<sup>39</sup>. Ook worden schadelijke reacties beperkt door het volume van het vaccin te verkleinen, bijvoorbeeld door de concentratie van de antistofoplossing (bv. PZP) te verhogen zodat het te injecteren volume kleiner is, of door het vaccin, als het met de hand geïnjecteerd wordt, te verdelen over meerdere injectiepunten zodat het volume per injectiepunt kleiner is<sup>39</sup>. De injectiepunten moeten in dat geval wel voldoende uit elkaar liggen om eventuele fusie van ontstekingshaarden te voorkomen.

## 5.4 Evaluatie immunocontraceptie

Immunocontraceptievaccins die zich richten tegen GnRH of de zona pellucida bieden mogelijkheden voor effectieve behandeling van wilde hoefdieren en lijken relatief veilig voor de gezondheid van de behandelde dieren<sup>98</sup>. De opbouw van zowel de zona pellucida als het GnRH-molecuul is vrijwel gelijk in alle zoogdieren, zodat hetzelfde immunocontraceptiemiddel aan een groot aantal verschillende soorten hoefdieren kan worden toegediend<sup>43</sup>. Veel onderzoek heeft zich gericht op het witstaarthert, een hert dat qua grootte vergelijkbaar is met het damhert en een probleemsoort vormt in stedelijke gebieden in de VS. Daarnaast is veel onderzoek gedaan naar wilde paarden omdat het beheer van deze dieren in de VS problematisch is: te grote kuddes hebben een negatieve invloed op het landschap, maar het doden van paarden wordt in veel gevallen als onethisch beschouwd en het herplaatsen van veulens is erg duur.

GnRH-vaccins zijn binnen de groep van hoefdieren effectief gebleken in het voorkomen van dracht in everzwijnen, witstaartherten en wilde paarden<sup>36,50,51,75,81,83</sup>. GnRH-vaccins hebben grote invloed op het gedrag van dieren, omdat normaal reproductief gedrag vrijwel geheel onderdrukt wordt. Niet alleen worden de daadwerkelijke voortplanting en dracht beperkt, maar ook oestrusgedrag bij vrouwtjes, en daardoor bronstgedrag bij mannetjes. Dit kan zowel een nadeel als een voordeel zijn. Het nadeel is dat dieren een deel van hun natuurlijke gedrag niet meer ten uitvoer kunnen brengen. Reproductief gedrag maakt een belangrijk deel uit van het scala aan gedragingen van een dier en het is een ethisch vraagstuk of het ontzeggen daarvan aanvaardbaar is. Het voordeel is dat GnRH-immunisatie niet in verlenging van de bronsttijd resulteert, wat bij PZP-immunisatie wel het geval is (zie onder).

Een andere moeilijkheid met GnRH-vaccinatie is de grote variabiliteit in respons, zowel bij individuele dieren als bij verschillende studies. In twee onderzoeken met witstaartherten, in hetzelfde jaar uitgevoerd door dezelfde onderzoekers, was het percentage onvruchtbaarheid na behandeling met GonaCon 88% in het ene en 67% in het andere onderzoek, gemeten over één jaar<sup>36</sup>. Hoewel een effectiviteit van 88% al aan de lage kant is, zal een effectiviteit van 67% de kosten onnodig opdrijven en daarom voor de meeste beheerders niet acceptabel zijn. Bij de meeste studies worden daarnaast grote individuele verschillen in respons waargenomen en er is vaak een aantal dieren dat geheel niet of slechts gedurende korte tijd reageert<sup>43</sup>. Equity vaccin bijvoorbeeld onderdrukte de functie van de ovaria in alle vierentwintig behandelde merries, maar de duur van het effect varieerde van slechts zes tot minstens dertig weken<sup>30</sup>.

De duur van onvruchtbaarheid na vaccinatie met GnRH vaccin is direct afhankelijk van de sterkte van de immuunreactie van elk individueel dier. Merries die langere tijd onvruchtbaar waren hadden ook significant hogere concentraties antistoffen in hun bloed dan merries die kort na de behandeling drachtig werden<sup>51</sup>. In sommige gevallen kunnen individuele verschillen verklaard worden doordat het middel op verschillende tijden van het jaar is toegediend<sup>75</sup> of in een andere fase van de oestruscyclus<sup>12</sup>. Het wordt echter algemeen aangenomen dat de verschillen in immuunreactie ook een genetische basis hebben, waardoor sommige onderzoekers bezorgd zijn over de effecten van contraceptie op populatiegenetica<sup>19</sup>. Wanneer de sterkte van de immuunreactie op een contraceptievaccin namelijk erfelijk is en de dieren die niet reageren de enige zijn die zich kunnen voortplanten,

is het de verwachting dat er in elke volgende generatie meer dieren niet zullen reageren<sup>43</sup>. Dit zou de toekomstige bruikbaarheid van immunocontraceptie kunnen beperken, maar is vooralsnog met name een theoretische mogelijkheid omdat een dergelijk effect nog nooit is waargenomen of onderzocht.

Ook het gebruik van PZP heeft een aantal specifieke voordelen maar ook nadelen ten opzichte van andere contraceptiemethodes. PZP-vaccins zijn effectief in het voorkomen van dracht in veel verschillende hoefdieren, waaronder witstaartherten, damherten, edelherten en wilde paarden<sup>23,42,54,107,108</sup>. Het PZP-vaccin is relatief goedkoop verkrijgbaar voor ongeveer \$24 per dosis van vaccin plus adjuvant<sup>92,113</sup>, of \$50 per dosis van het langwerkende SpayVac vaccin plus AdjuVac adjuvant<sup>71</sup>. PZP-vaccins zijn wateroplosbaar en kunnen via darts toegediend worden. Omdat het vaccin al in een klein volume effectief is kan gebruik gemaakt worden van 1-cc darts die nauwkeuriger over grotere afstanden (tot 60 m)<sup>65</sup> afgeleverd kunnen worden dan grotere darts<sup>107</sup>. Los van de effecten van adjuvants lijken PZP-vaccins geen nadelige effecten op de gezondheid van behandelde dieren te hebben. Er zijn geen nadelige effecten waargenomen op drachtige dieren, of op hun veulens<sup>64</sup>. De veulens van dertig merries die behandeld werden met PZP in het derde trimester van de dracht werden gezond geboren<sup>61</sup>. Drie merries die in de baarmoeder aan PZP waren blootgesteld hebben later zelf veulens voortgebracht, wat aangeeft dat de reproductie van de nakomelingen van behandelde merries waarschijnlijk niet negatief wordt beïnvloed.

Eén van de grootste nadelen van immunisatie met PZP is de verlenging van de bronsttijd. Wanneer vrouwelijke hoefdieren niet drachtig worden komen ze telkens opnieuw in oestrus en gaan zowel vrouwtjes als mannetjes weken of zelfs maanden na de normale bronsttijd door met reproductief gedrag<sup>42,78,82,107,108</sup>. Wanneer de antistofconcentraties laag in het seizoen zakken tot beneden contraceptieve waarden kan de verlenging van de bronsttijd leiden tot ongewoon late dracht en geboorte<sup>56,108</sup>. Bijvoorbeeld bij behandelde witstaartherten duurde de bronst tot in februari, twee maanden nadat het reproductief gedrag van onbehandelde dieren al geheel was gestopt<sup>78</sup>. De PZP-behandeling was ineffectief bij 78% van de hinds die slechts één injectie hadden gehad en uit de geboortedata van de kalveren bleek dat het grootste deel verwekt was tijdens het verlengde gedeelte van de bronst. Het ligt in de verwachting dat de overleving van laatgeboren jongen lager is door hoge sterfte tijdens de winter<sup>79</sup>. Velddata van wilde paarden gaf echter aan dat het effect van PZP behandeling op geboortedata beperkt was<sup>62</sup>. Bij onbehandelde merries werd 68% van de veulens binnen het normale seizoen geboren en bij behandelde merries 55%, een vermindering maar geen significant verschil. Tegen de verwachting in was er geen verschil in overlevingskans tussen veulens die binnen of buiten het normale seizoen geboren werden of bij behandelde of onbehandelde merries, ondanks de strenge winters in het onderzoeksgebied. Voor herten of andere soorten hoefdieren zijn dergelijke gegevens niet beschikbaar.

Of de energiekosten van late geboorte nadelig zijn voor vrouwtjesdieren is niet bekend, maar de energiekosten van een verlengde bronst op zich zijn waarschijnlijk niet nadelig wanneer het vrouwtje niet drachtig wordt. In een studie met in gevangenschap gehouden witstaartherten hadden hinds die met PZP behandeld waren een hoger lichaamsgewicht dan onbehandelde hinds die de winter ervoor drachtig waren geweest, blijkbaar omdat de energiekosten van dracht en zogen groter waren dan die van verlengde reproductieve activiteit<sup>79</sup>. In een andere studie met in het wild levende witstaartherten werden geen

verschillen in gevonden tussen behandelde en onbehandelde hinds in lichaamsgewicht en de hoeveelheid niervet (een maat voor algehele lichaamsconditie)<sup>114</sup>. Sommige onderzoekers denken dat een verlengde bronsttijd meer invloed heeft op mannetjesdieren, omdat hun gedrag tijdens de bronst veel energie kost, maar dit is tot nu toe niet onderzocht<sup>44,114</sup>.

Hinds zijn actiever (besteden meer tijd aan lopen en rennen) wanneer ze in oestrus zijn<sup>79</sup>, en omdat met contraceptie behandelde hinds vaker in oestrus zijn dan onbehandelde hinds waren zij in de bronsttijd significant actiever dan onbehandelde hinds<sup>79</sup>. Dit leidde tot het idee dat behandeling met contraceptie kan leiden tot een toename in het aantal auto-ongelukken met herten, maar er zijn geen gegevens die dit idee ondersteunen. In een studie waarin de verspreiding van herten werd gemeten door middel van GPS werd geen verschil gevonden tussen met SpayVac behandelde hinds en onbehandelde hinds in dagelijkse verplaatsing, de grootte van het centrumgebied van hun voorkomen of de grootte van het gebied waar ze in een jaar tijd kwamen<sup>44</sup>. Uit een andere studie bleek dat het aantal herten dat behandeld was met PZP niet correleerde met het aantal auto-ongelukken in het gebied<sup>98</sup>.

Aspecten die onderbelicht zijn in de meeste onderzoeken naar immunocontraceptie zijn de lange-termijn effecten op de gezondheid en de omkeerbaarheid van de behandeling na langdurig gebruik van een PZP- of GnRH-vaccin. De invloed van het stimuleren van een immuunreactie tegen de eigen reproductieve structuren of hormonen van een dier zijn grotendeels onbekend<sup>82</sup>. Vooral wat betreft GnRH-vaccins ontbreken studies naar de lange-termijn effecten, PZP-vaccins zijn uitvoeriger bekeken. Het blijkt dat na kort gebruik (1 tot 3 jaar) van (kortwerkende) PZP-vaccins het effect van onvruchtbaarheid binnen redelijke tijd na beëindiging van de behandeling omkeerbaar is<sup>56,57,70,109,110</sup>, al produceren hinds na beëindiging van de PZP-behandeling vaak eerst gedurende één of meerdere jaren slechts één kalf, en pas daarna weer twee<sup>82</sup>.

Er zijn aanwijzingen dat drie of meer opeenvolgende jaren van PZP-behandeling de normale functie van de ovaria kan verminderen, omdat de immuunreactie zich niet alleen tegen gerijpte eicellen blijkt te richten, maar ook tegen ongerijpte eicellen en ander weefsel van de ovaria<sup>54</sup>. Behandeling met SpayVac bijvoorbeeld resulteerde in baarmoederoedeem dat werd veroorzaakt door lage progesteronconcentraties<sup>51</sup>. Dit kan mogelijk verklaard worden doordat de anti-ZP antistoffen ook ongerijpte follikels 'aanvallen', zodat deze niet kunnen rijpen en ovuleren en er dientengevolge geen progesteronproducerend geel lichaam gevormd wordt<sup>51</sup>. Nadat merries drie jaren met PZP waren behandeld bleek uit hormonale data en gedragsobservaties dat de merries een verminderde oestrogenafgifte en onvolledige oögenese (eicelvorming) hadden en niet meer ovuleerden<sup>56</sup>. Het percentage merries dat nog normaal ovuleerde na 1, 3 en 7 opeenvolgende jaren van PZP-behandeling daalde van 73% naar 56% en 10% respectievelijk<sup>61</sup>. Wanneer in bepaalde situaties omkeerbaarheid van de behandeling van belang is, zou erop gelet moeten worden dat dezelfde dieren niet langer dan drie opeenvolgende jaren behandeld worden. Naast de duur van de behandeling en de dosering van PZP speelt ook de zuiverheid van het vaccin een rol in de lange-termijn effecten op de reproductie<sup>56</sup>. Het zuivere ZP3 eiwit (het receptoreiwit dat spermacellen aan het eiceloppervlak bindt) kan door klonering geproduceerd worden wat niet alleen de veiligheid van het vaccin kan verhogen, maar ook de kosten kan beperken doordat tijdrovende preparatie van varkensovaria niet meer nodig is<sup>54,103</sup>.

## 6. Effecten van contraceptie op populatieniveau en enkele praktijkvoorbeelden

### 6.1 Contraceptie in computermodellen

Het gebruik van chemocontraceptiemiddelen en immunisatie met PZP- of GnRH-vaccins is in veel studies effectief gebleken in het voorkomen van dracht bij verschillende soorten hoefdieren. Het aantonen van effectiviteit bij individuele dieren is echter niet hetzelfde als effect op populatieniveau<sup>98</sup>. Het is van groot belang om te weten hoe contraceptiemiddelen de populatiedynamica beïnvloeden en of populatiebeheer op basis van contraceptie succesvol kan zijn, maar ook welke onvoorziene gevolgen contraceptie mogelijk kan hebben. Onderzoekers die de gevolgen van contraceptie op populatieniveau hebben gesimuleerd met behulp van computermodellen waren in veel gevallen sceptisch over de effectiviteit en bruikbaarheid van contraceptie voor populatiebeheer. In eerste instantie werd gesuggereerd dat contraceptie alleen zou werken in soorten die een korte levensduur hebben en hoge vruchtbaarheid, zoals ratten of konijnen<sup>46</sup>. Andere studies stelden dat alleen langwerkende contraceptiemiddelen<sup>33,45</sup> of zelfs permanente sterilisatie<sup>35</sup> effectief zou zijn om de populatiegrootte van soorten met een langere levensduur te controleren. Ook zou contraceptie alleen geschikt zijn voor kleine, geïsoleerde populaties<sup>71,113</sup>.

Andere modelstudies wezen op positieve kanten van contraceptie. Een model van de populatiedynamica van wilde paarden liet zien dat de grootte van populaties die beheerd werden door contraceptie relatief stabiel waren, vergeleken met de scherpe stijgingen en dalingen die veroorzaakt werden door het verwijderen van dieren<sup>38</sup>. Als resultaat van deze dynamica was de gemiddelde grootte van een populatie die beheerd werd door het verwijderen van dieren 18-27% groter dan de doelgrootte, terwijl de populaties die met contraceptie beheerd werden binnen 3% van de doelgrootte bleven. In tegenstelling tot eerdere studies toonde een model aan dat niet alleen kortlevende soorten, maar ook langlevende soorten met lage sterfte onder volwassen dieren effectief beheerd kunnen worden met contraceptie, hetzij dat een langere tijdsperiode nodig is om effect te bereiken<sup>45</sup>. Door de tegenstrijdige uitkomsten van verschillende modelstudies keert de aandacht naar de weinige praktijkstudies die de gevolgen van contraceptie op populatieniveau hebben vastgelegd, zoals de volgende drie voorbeelden.

### 6.2 Beheer van wilde paarden in Assateague Island National Seashore

Midden jaren '90 is er een grootschalige studie gestart naar de lange-termijn effecten van contraceptie op een populatie van bijna 170 wilde paarden in het nationaal park Assateague Island National Seashore in Maryland, VS<sup>65</sup>. Sinds 1994 is contraceptie met kortwerkende PZP-vaccins de enige methode van beheer van deze populatie geweest. Het eerste, directe doel van het contraceptieprogramma was om de populatiegroei te stoppen, een tweede doel om de populatie over een aantal jaren terug te brengen tot 150 paarden, en het laatste doel om een populatiegrootte van 120 paarden te bereiken. De PZP-vaccins werden bereid uit verse varkensovaria en de eerste toediening aan elke merrie bestond uit 100 µg PZP opgelost in 0,5 ml fosfaatbuffer, gemengd met 0,5 ml Freund's Complete Adjuvant (FCA) of, vanaf



2002, met Freund's Modified Adjuvant (FMA). Jaarlijkse boostervaccins bestonden gedurende de hele periode uit 100 µg PZP in 0,5 ml fosfaat buffer, gemengd met 0,5 ml Freund's Incomplete Adjuvant (FIA). De vaccins werden toegediend door middel van 1.0 cc Pneu-darts (Pneu-Dart Inc., Williamsport, Pennsylvania, VS) van een afstand variërend van 10 tot 55 m.

Toen de behandelingen in 1994 startten bestond de kudde uit 166 paarden<sup>5,65</sup>. Tot dan toe kreeg jaarlijks gemiddeld 57% van de merries een veulen, het jaarlijkse sterftcijfer onder volwassen dieren was 5% en de populatie groeide met gemiddeld 8% per jaar. Er werd een behandelplan opgesteld dat de reproductieve leeftijd moest verhogen en er tegelijk voor moest zorgen dat alle merries konden bijdragen aan de genetische samenstelling van de populatie<sup>65</sup>. De eerste fase van het behandelplan werd uitgevoerd in 1994 en bestond uit het toedienen van een eerste dosis PZP aan alle merries ouder dan twee jaar. Deze enkele dosis bood op zichzelf geen contraceptie maar was bedoeld om bij alle merries antigeenherkenning te stimuleren, zodat in opvolgende jaren slechts een boostervaccin nodig zou zijn om contraceptie te bereiken. De tweede fase van de behandelingen startte in 1995. Alle merries van twee, drie en vier jaar oud werden behandeld, waarna de behandeling gestopt werd totdat de merries drie veulens hadden voortgebracht, om vervolgens weer behandeld te worden tot hun dood. Na twee jaar was het eerste doel bereikt en het aantal paarden in de populatie gestabiliseerd. Omdat er echter geen verdere krimp van de populatie zichtbaar was werd het behandelplan aangepast in het vierde jaar van de studie (1998) om de merries maar twee veulens te laten voortbrengen, en nogmaals in het zesde jaar (2000) om nog slechts één veulen per merrie geboren te laten worden. Per jaar werd 42 - 76% van alle volwassen merries behandeld (95% in 1994 tijdens het toedienen van de primaire inentingen)<sup>65</sup>.

Sinds de stabilisatie van de populatie na twee jaar van behandelen fluctueerde de populatie rond de 170 paarden. Omdat het sterftcijfer onder volwassen dieren laag was in deze populatie duurde het lang voordat er een daadwerkelijke daling in de populatiegrootte zichtbaar was. Pas in 2003 zette een daling in naar 158 paarden in 2005, 138 in 2006 en 135 in 2007, een afname van 23%<sup>5,65</sup>. Dit betekent dat elf jaar na de start van het programma het tweede doel van 150 paarden bereikt werd, en het derde doel, een populatiegrootte van 120, in zicht was gekomen. Gedurende de eerste elf jaar van het beheer bracht jaarlijks gemiddeld 7% van de merries een veulen voort, een daling van 88% in het geboortecijfer. De effectiviteit van contraceptie in verschillende jaren varieerde van 92 tot 100%. Er werd in dit programma gekozen voor een kortwerkend contraceptiemiddel zodat als de populatie onbedoeld te klein zou worden, of er onverwacht hoge sterfte zou zijn, er snelle aanpassingen gemaakt konden worden om een groter aantal merries zich voort te laten planten (ten minste voor zover hun reproductieve systeem niet aangetast zou zijn door langdurige behandeling, zie 5.4). Ook werd door de toepassing van een kortwerkend middel, gecombineerd met een uitgedacht vaccinatieplan waarbij iedere merrie deelnam aan de reproductie, het verlies van genetische variatie voorkomen<sup>65</sup>.

Behalve de beoogde effecten op populatiegroei had het langdurige beheer met PZP een aantal bijkomende effecten, waaronder een sterke verhoging in de levensverwachting van merries, een veranderde leeftijdssamenstelling van de populatie en een verschuiving in de sekseratio<sup>65</sup>. De gemiddelde leeftijd van merries in de populatie verdubbelde bijna door het

contraceptieprogramma, van 8,1 jaar in 1994 tot 15 jaar in 2003. Hoewel dit deels volgens verwachting was omdat er veel minder jonge dieren in de populatie waren zat er nog meer achter deze verhoging, namelijk een sterk verhoogde levensverwachting van behandelde merries. De gemiddelde sterfteleeftijd liep op van 6,4 jaar voor onbehandelde merries naar 10,2 jaar voor merries die gedurende één of twee jaar behandeld waren met PZP en 19,9 jaar voor merries die drie of meer jaar behandeld waren<sup>64</sup>. In de loop van het programma veranderde daardoor de leeftijdsopbouw van de populatie: het aantal paarden in de oudere leeftijdsklassen nam toe en er ontstond een extra klasse van nog oudere dieren, die er voor het contraceptieprogramma niet waren. Deze oudste klasse, van paarden in de leeftijd van 20 tot 30 jaar, bestond vrijwel geheel uit merries. De jaarlijkse sterfte daalde van 5% in 1994 naar 3,3% in 2003, om vervolgens tussen 2004 en 2006 plotseling te stijgen naar 9%, toen een groot deel van de merries hun 'nieuwe maximale leeftijd' had bereikt<sup>65</sup>. De verhoging in de levensverwachting wordt geheel toegeschreven aan de verbeterde lichaamsconditie door het minder vaak drachtig worden, en niet aan directe effecten van het PZP vaccin op de gezondheid<sup>64</sup>. Als gevolg van de langere levensduur van behandelde merries is ook de sekseratio van de populatie verschoven. Traditioneel was deze ongeveer 1 : 1, maar in 2007 waren er 51 hengsten en 84 merries, oftewel een sekseratio van 1 : 1,65. Omdat vanaf 2006 de sterfte van oudere merries is ingezet is de verwachting dat dit verschil niet groter zal worden, maar eerder wat af zal nemen<sup>64</sup>.

### **6.3 Beheer van witstaartherten op een campus in Maryland**

In de jaren '90 startte men met een contraceptieprogramma om de populatie witstaartherten te beheren die leefden op de campus van het National Institute of Standards and Technology in Gaithersburg, Maryland, VS<sup>99</sup>. De campus is een 233 ha groot omheind gebied, met ongeveer 145 ha grasveld en 16 ha bos. In 1994 startte men met het vangen en oormerken van de herten en in 2000 was ongeveer 90% van alle herten gemerkt. De contraceptiebehandeling bestond uit inenting met een kortwerkend PZP-vaccin, toegediend met darts of met de hand geïnjecteerd. Voor onderzoeksdoeleinden werden verschillende doseringen van PZP en verschillende adjuvants getest, die sterk varieerden in effectiviteit. Het grootste deel van de hinds ( $\pm 61\%$ ) kreeg een eerste vaccinatie van 100  $\mu\text{g}$  PZP met FCA of FMA (Freund's Compete/Modified Adjuvant), en boostervaccinaties van 100  $\mu\text{g}$  PZP in FIA (Freund's Incomplete Adjuvant), wat de meest effectieve behandeling bleek te zijn. Het darten kostte in alle jaren ongeveer even veel tijd, gemiddeld 1,8 uur per hert.

In de vijf jaar voorafgaand aan de contraceptiebehandelingen groeide de populatie met 10-12% per jaar, van 185 herten in 1993 tot een piek van 300 in 1997, mede veroorzaakt door de immigratie van ongeveer 30 herten na bebouwing van aangrenzende stukken land. Nadat het grootste deel van de herten geormerkt was kon de jaarlijkse immigratie geschat worden op 5 tot 12 dieren per jaar tussen 2003 en 2006. Het sterftcijfer (gebaseerd op vondsten van dode herten) lag gemiddeld op 14% tussen 1994 en 2006, daarnaast verdween jaarlijks ongeveer 8% van de herten door onbekende sterfte of emigratie.

Hinds die behandeld waren met PZP+FCA of PZP+FMA als eerste vaccin en PZP+FIA als boostervaccin kregen gemiddeld 0,19 jongen per jaar. Andere behandelingen hadden een lagere effectiviteit, zodat het aantal jongen per behandelde hinde varieerde tussen 0,12 en

0,59 per jaar. Onbehandelde hinds kregen gemiddeld 0,77 jongen per hinde per jaar. Vanaf het eerste jaar van contraceptie (1997) kromp de populatie met 6-8% per jaar tot iets meer dan 200 dieren in 2002. Gedurende 2003 en 2004 nam het aantal iets toe tot ongeveer 240 dieren vanwege onderzoek naar de omkeerbaarheid van het PZP-vaccin, om vervolgens weer af te nemen tot ongeveer 190 herten in 2007. In tegenstelling tot de effecten van contraceptie op een populatie wilde paarden (zie 6.2) resulteerde de contraceptiebehandeling van de hertenpopulatie niet in een verandering van de sekseratio, die tussen 1993 en 2006 op dezelfde waarde bleef van gemiddeld 0,54 mannetjes per vrouwtje. Omdat auto-ongelukken de voornaamste doodsoorzaak zijn van herten op de NIST campus, is het daarnaast niet waarschijnlijk dat contraceptie zal resulteren in een stijging van de sterfteleeftijd van hinds, zoals bij wilde paarden.

Veranderingen in populatiegrootte volgden snel op de veranderingen in populatievruchtbaarheid (gemiddelde aantal jongen per hinde), het effect van contraceptie was dus zonder grote vertraging zichtbaar in populatie. Door bij te houden hoe groot de groei of afname van de populatie was bij verschillende waarden van populatievruchtbaarheid, kon worden vastgesteld dat wanneer een hinde gemiddeld 0,4 jongen per jaar kreeg, de groeisnelheid van de populatie nul was en de populatie stabiel zou zijn. Om dit te bereiken zou ongeveer 60% van de reproductieve vrouwtjes behandeld moet worden. In 2005 werd, nadat alleen nog de meest effectieve behandeling toegepast werd, een aantal van 0,15 jongen per hinde per jaar bereikt en nog verder verlaagd naar 0,12 in 2006. Een model van de situatie gaf aan dat de geboorte van 0,15 jongen per hinde per jaar een populatieafname van 50% zou geven over een periode van zes jaar, om tenslotte te stabiliseren op een populatiegrootte van 60-70 herten.

Uit de resultaten van het onderzoek blijkt dat in een populatie als deze, waar het sterftcijfer relatief hoog ligt (gecombineerde jaarlijkse sterfte en emigratie van 2001 tot 2006 was  $\pm 22\%$ ), de populatie binnen korte tijd reageert op contraceptiebehandeling, en ook op veranderingen in de effectiviteit van de behandeling. Het tijdelijk niet geven van boostervaccins aan 27 hinds in 1999 en 2001 en de behandeling van 25 hinds met ineffectieve contraceptiemiddelen van 2000 tot 2002 leidde direct tot een verminderde populatieafname vanaf 2001, en een populatiestijging in 2003 en 2004. Het effect van contraceptie op de populatiegrootte werd in deze studie sterk beïnvloed doordat er verschillende methoden werden getest die niet alle even effectief bleken. Het algehele effect op de populatiegroei was zonder twijfel sterker geweest wanneer alleen de meest effectieve behandeling toegepast werd, zoals blijkt uit de lage populatievruchtbaarheid die bereikt werd in 2005 en 2006.

#### **6.4 Beheer van witstaartherten op Fire Island, New York**

Fire Island is een eiland van 51 km lang en 0,2 tot 1 km breed, gelegen in de buurt van New York, VS. Het eiland heeft naast 19 dorpjes en een drukbezochte kustlijn verschillende soorten natuurlijk habitat, zoals duinen, kwelders, bossen en graslanden. Witstaartherten komen er van nature voor. De aantallen witstaartherten in natuurlijk habitat waren hoog maar relatief stabiel, terwijl het aantal herten in bevolkt gebied sinds de jaren '80 sterk was gestegen en problemen veroorzaakte. Eind jaren '80 werd er een jacht gehouden, maar

vanwege sterke protesten van de bevolking en een rechtszaak bleef dit een eenmalige actie<sup>99</sup>.

In 1993 werd er gestart met een contraceptieprogramma om de aantallen witstaartherten te reduceren met behulp van kortwerkende PZP-vaccins<sup>84,99</sup>. De behandeling bestond uit een eerste vaccinatie met 100 µg PZP met ofwel FCA, ofwel Montanide ISA-50 als adjuvant. Boostervaccins bestonden uit 100 µg PZP met ofwel FIA, ofwel Montanide ISA-50. De herten werden niet gevangen of geormerkt. In de eerste vijf jaar van het onderzoek werden herten individueel herkend op basis van beschrijvingen van uiterlijk en groepsassociaties. De herten kregen het vaccin toegediend met 1.0 cc darts, geschoten vanuit een blaaspijp. Vanaf 1998 werden herten in plaats daarvan gedart met vaccinatie/marker-darts van *Pneu-Dart* (zie 7.1), geschoten vanuit een *Dan-Inject CO<sub>2</sub> Blo-jector* van afstanden tot 15 m. Door de verfstof die deze darts afgaven kon tijdens het dartseizoen worden herkend of een hert al behandeld was of niet.

Tussen 1993 en 2004 werden er 958 PZP-vaccins toegediend aan een groep herten die aan de westkant van het eiland leefde<sup>99</sup>. De effectiviteit van de behandeling lag tussen de 79 en 82,4%. Bijna 20% van de behandelde herten kon zich dus voortplanten, vergeleken met 83,5% van de onbehandelde herten. Tussen 1995 en 1998 bleef de populatie groeien met ongeveer 11% per jaar. Vervolgens was het omslagpunt bereikt en kromp de populatie in de twee jaren daarna met maar liefst 23% per jaar<sup>98</sup>. De gemiddelde afname per jaar over de hele periode tussen 1998 en 2006 was 10% per jaar. De populatiedichtheid in 2006, na ruim twaalf jaar van behandelen, was ongeveer 46% van de dichtheid tijdens de piek in 1996<sup>99</sup>. De tragere initiële respons van deze populatie vergeleken met de witstaartherten in Maryland (6.3) komt waarschijnlijk door het lagere sterftcijfer, omdat auto's, roofdieren en jacht afwezig waren op Fire Island<sup>98</sup>. Bovendien werden de herten op Fire Island veel bijgevoerd door eilandbewoners en recreanten, wat bijdroeg aan de lage sterfte en mogelijk ook aan hogere vruchtbaarheid.

## 6.5 Samenvatting praktijkvoorbeelden

De studies die de effecten van contraceptie op populatieniveau bekeken hebben, boekten positieve resultaten. Alle drie de studies hebben gebruik gemaakt van kortwerkende PZP-vaccins. Hoewel de afname van de populatie wilde paarden langzamer ging dan verwacht door de langere levensverwachting van behandelde merries, toont de studie aan dat behandeling met immunocontraceptie de populatiegroei binnen twee jaar tijd kan stabiliseren<sup>5,64,65</sup>. In een populatie witstaartherten in Maryland was de stabilisatie en reductie van de populatie al binnen één jaar ingezet, mede dankzij hoge sterfte onder volwassen dieren<sup>98</sup>. In de populatie witstaartherten op Fire Island was de sterfte veel lager en duurde het ruim vier jaar voor er een eind kwam aan de populatiegroei, maar daarna kromp de populatie snel en halveerde over de volgende acht jaar<sup>99</sup>.

De studies tonen aan dat met een immunocontraceptieprogramma de stabilisatie van een hoefdierpopulatie binnen één tot vier jaar bereikt kan worden. Daarna is de tijd die het kost om een populatiereductie te bereiken afhankelijk van de sterfte- en immigratiecijfers die specifiek zijn voor de soort en het gebied. Wanneer de sterfte onder volwassen dieren laag ligt treedt er een vertraging op en kost het meer tijd voor het punt van populatiereductie bereikt wordt dan wanneer de sterfte hoog ligt. In de studies met witstaartherten kostte het

ongeveer 10 jaar om een reductie van 37% (Maryland populatie) of 46% (Fire Island populatie) te bereiken<sup>99</sup>. Bij wilde paarden, waar de sterfte veel lager lag, duurde het 13 jaar om de populatie met 23% te reduceren<sup>65</sup>. Het contraceptieprogramma in Maryland had een hogere effectiviteit kunnen hebben als vanaf het begin alleen het meest effectieve contraceptiemiddel was gebruikt en er geen onderzoek was gedaan naar de omkeerbaarheid van het vaccin.

Omdat hoefdierpopulaties goed te stabiliseren zijn met contraceptie maar reductie lang kan duren, kan het een optie zijn om een populatie eerst met lethale methoden te reduceren en vervolgens op het gewenste aantal te houden door middel van contraceptie<sup>45</sup>. Helaas zijn er geen studies bekend die de effecten van andere contraceptiemiddelen zoals leuprolide, GnRH-vaccins of SpayVac op populatieniveau hebben bekeken. Waarschijnlijk zou een effectief, langwerkend middel zoals SpayVac grotere populatie-effecten teweeg brengen op een kortere termijn<sup>99</sup>.

## **6.6 Effecten van contraceptie op populatiegenetica**

De toepassing van contraceptiemiddelen kan op verschillende manieren de genetische samenstelling van een populatie veranderen<sup>63</sup>. Er bestaat, zoals eerder genoemd, grote individuele variatie in de mate van respons op immunocontraceptiemiddelen<sup>51,61,81</sup> en hoewel er geen informatie is over de erfelijkheid van deze respons<sup>19</sup> is behandeling met immunocontraceptiemiddelen een potentiële selectiefactor in de populatie<sup>43</sup>. Sommige onderzoekers zijn bang dat immunocontraceptie zwakke en zieke dieren zal selecteren, omdat dieren met een zwakke immuunreactie waarschijnlijk minder last zullen hebben van het contraceptiemiddel dan gezonde dieren met een goed immuunsysteem, en dus vooral zwakke dieren zich voort kunnen planten<sup>63,86</sup>. Hierover is momenteel uit de praktijk nog niks bekend, en toekomstig onderzoek naar de toepassing van immunocontraceptie zal moeten uitwijzen of deze angst gegrond is.

Daarnaast kan contraceptie, net als andere methoden van populatiebeheer, de genetische diversiteit van een populatie beperken, simpelweg omdat een deel van de populatie niet deel kan nemen aan de reproductie. Wanneer over een periode van meerdere jaren slechts een kleine groep dieren deelneemt aan reproductie is een toename in de mate van inteelt te verwachten<sup>20</sup>. Evenzo hebben kleine, gesloten populaties die met langwerkende of permanente contraceptiemiddelen behandeld worden een grotere kans op uitsterven<sup>45</sup>. De negatieve effecten op populatiegenetica kunnen worden verminderd door een kortwerkend contraceptiemiddel te kiezen in combinatie met een uitgewerkt beheersplan, zodat een groter gedeelte van de populatie (afwisselend) een bijdrage aan de genenpoel kan leveren<sup>55</sup>.

## 7. Contraceptie toepassen in de praktijk

### 7.1 Hoeveel dieren behandelen

Het aantal vrouwtjesdieren dat behandeld moet worden om een populatie te stabiliseren of te reduceren ligt ruwweg tussen de 50 en 90% van het totale aantal vrouwtjes<sup>113</sup>, maar is afhankelijk van vele factoren. Ten eerste uiteraard van het doel van het contraceptieprogramma: moet de populatie gestabiliseerd worden, met 10% gereduceerd worden, of met 50% gereduceerd worden? Als een groot effect gewenst is moet logischerwijs ook een groot gedeelte van de populatie behandeld worden, want hoe meer dieren er behandeld worden, hoe groter de afname in groeisnelheid is<sup>35</sup>. Wellicht moet er in eerste instantie een hoog percentage dieren behandeld worden om de gewenste populatiegrootte te bereiken en kan het aantal na enige jaren naar beneden worden bijgesteld om de populatie te stabiliseren<sup>100</sup>. Zo'n eerste fase van populatiereductie kan ook bereikt worden door toepassing van lethale methoden, om vervolgens de populatie op de gewenste grootte te houden door middel van contraceptie<sup>45</sup>.

Ook de effectiviteit van contraceptie is een belangrijke factor die bepaalt hoeveel dieren er behandeld moeten worden. Een voorbeeld van de relatie tussen effectiviteit, doelstelling en het aantal dieren dat behandeld moet worden is gegeven in figuur 1. Deze grafiek is gebaseerd op de specifieke gegevens (geboorte- en sterftcijfers, leeftijdsopbouw, etc.) van een populatie van rond de 400 witstaartherten in Ironduoit, New York, en de percentages zijn dus niet direct toepasbaar op andere situaties<sup>96</sup>. De grafiek bevat geen tijdsaspect, de lijnen in de grafiek zijn evenwichtslijnen. Uit figuur 1 kan worden afgeleid dat als het beheersdoel voor deze populatie een populatieomvang is ter grootte van de helft van de draagkracht van het gebied, dit doel bereikt kan worden door  $\pm 65\%$  van alle reproductieve hinds met een contraceptiemiddel te behandelen als het middel voor 70% effectief is. Is de effectiviteit van het middel 90%, dan hoeft nog slechts  $\pm 50\%$  van de reproductieve vrouwtjes behandeld te worden<sup>96</sup>.

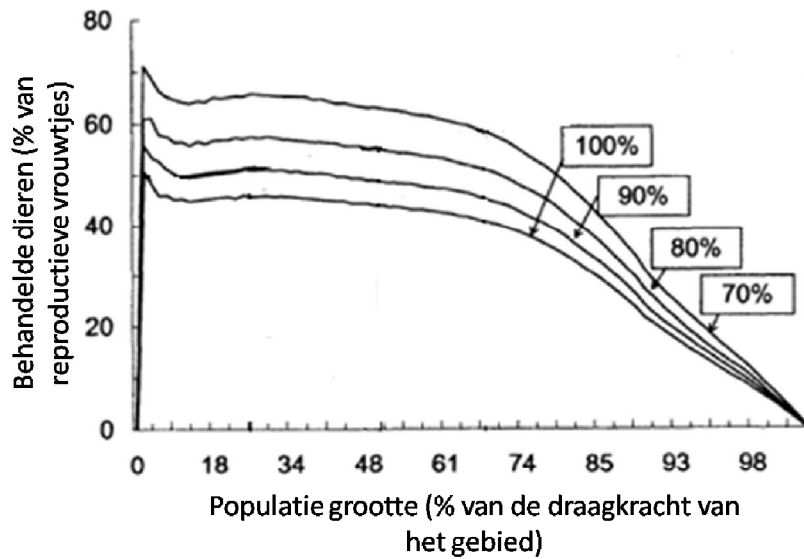
Geboorte, sterfte, immigratie en emigratie bepalen in elke populatie de mate van groei, en zijn ook van belang in het bepalen van het percentage dieren dat behandeld moet worden met contraceptie. Voor witstaartherten in Maryland werd op basis van sterfte- en geboortecijfers berekend dat behandeling van 60% van de vrouwtjes stabilisatie van de populatie zou geven<sup>99</sup>. Hoe hoger de groeisnelheid van een populatie, hoe groter ook het gedeelte van de populatie dat behandeld moet worden<sup>35</sup>. Immigratie speelt een rol doordat het de effectiviteit van een contraceptieprogramma beperkt<sup>100</sup>. Wanneer men een populatie op een niveau wil handhaven dat lager ligt dan de populatiedichtheid in omliggende gebieden zal immigratie een relatief grote invloed hebben<sup>96</sup>. Is in een gebied de immigratie voortdurend hoger dan de emigratie, dan moet daar rekening mee worden gehouden door het percentage dieren dat behandeld moet worden naar boven bij te stellen<sup>100</sup>.

De uiteindelijke effectiviteit van een contraceptieprogramma is afhankelijk van het gedeelte van de dieren dat gevonden wordt, het gedeelte dat behandeld kan worden en de effectiviteit van het contraceptiemiddel<sup>35</sup>. Wanneer bijvoorbeeld 80% van alle vrouwtjes van een populatie in het veld aangetroffen wordt, 90% daarvan goed gedart kan worden en de

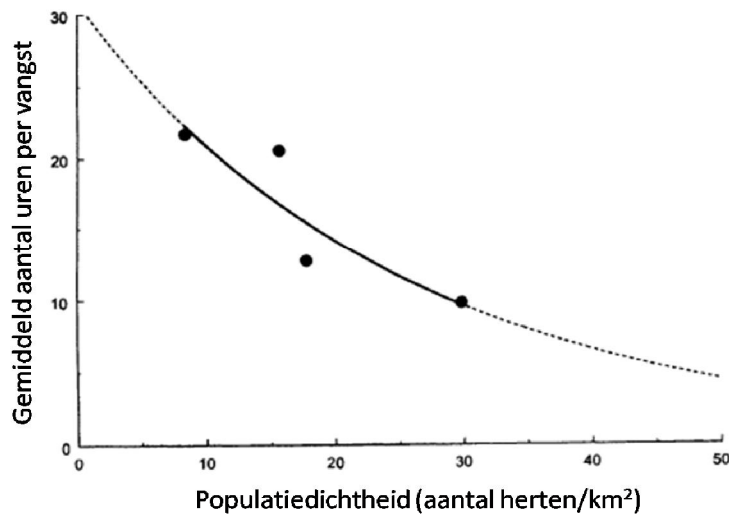
effectiviteit van het contraceptiemiddel 90% is, is de effectiviteit van het programma  $0,8 \times 0,9 \times 0,9 = 0,65$ . Dit betekent dat na de eerste behandeling 65% van de populatie onvruchtbaar is en 35% vruchtbaar blijft. De effectiviteit van een contraceptieprogramma kan omhoog gebracht worden door gebruik te maken van een contraceptiemiddel dat meerdere jaren werkzaam is. In de jaren na de eerste behandeling kan dan gericht gezocht worden naar reproductieve dieren (vrouwtjes met jongen) om die alsnog te behandelen<sup>35</sup>. De effectiviteit van een contraceptieprogramma zal lager zijn wanneer de behandelstatus van dieren niet herkenbaar is, omdat de kans dan groot is dat dieren onbedoeld meerdere keren behandeld worden, wat het totale aantal behandelingen omhoog brengt<sup>45</sup>. Vaccinatie/marker-darts die een tijdelijke kleurmarkering plaatsen op het behandelde dier kunnen hiervoor een oplossing bieden, maar zijn wel duurder dan niet-markerende darts (zie 8.1).

Ook bij het behandelen van een klein percentage dieren zal de populatiegroei afgeremd worden, al resulteert het niet in stabilisatie of reductie van de populatie. Uit een model dat de effecten van contraceptie op een populatie herten simuleerde bleek dat bij gebruik van een contraceptiemiddel met 95% effectiviteit, het behandelen van minder dan 50% van de vrouwtjes de grootte van de populatie niet verminderde, maar wel de populatiegroei vertraagde<sup>100</sup>. Het behandelen van 50% van de vrouwtjes was de drempelwaarde waarbij de populatie werd gereduceerd. Vervolgens gold dat hoe hoger het percentage, hoe sneller de populatie gereduceerd werd. Met 50% onvruchtbaarheid duurde het 20 jaar voor de populatie gehalveerd was, met 75% onvruchtbaarheid 12,5 jaar en met 100% onvruchtbaarheid 7,5 jaar. Het aanhouden van een onvruchtbaarheidsniveau van 75% of hoger resulteerde in het uitsterven van de populatie na 25 tot 30 jaar.

Om contraceptie te implementeren in het beheer van een hoefdierpopulatie moet het percentage dieren dat behandeld dient te worden vastgesteld worden op basis van de beheersdoelen én de specifieke eigenschappen van de betreffende populatie, zoals sterftcijfers en immigratie. Een langetermijnvisie is noodzakelijk wanneer de reductie van een populatie gewenst is in een populatie waar het sterftcijfer onder volwassen dieren laag ligt, want hoewel stabilisatie van de populatiegroei vaak binnen een paar jaar bereikt kan worden (zie praktijkvoorbeelden in 6.2 - 6.5), kan het bij dieren die een hoge leeftijd bereiken lang duren voordat contraceptie resulteert in een afname van het aantal dieren. De behandeling heeft in dat geval een vertragend effect en de resultaten van huidige inspanningen worden pas na jaren zichtbaar. Bij populaties met een hoger sterftcijfer is (bij gebruik van effectieve middelen en behandeling van voldoende dieren) binnen een termijn van enkele jaren een populatiereductie te verwachten.



**Figuur 1.** Voorbeeld van de relatie tussen het beheersdoel (populatiegrootte weergegeven als % van de draagkracht; x-as), het percentage dieren dat behandeld moet worden (y-as) en de effectiviteit van de contraceptiebehandeling (omkaderde percentages). Gegevens zijn gebaseerd op een populatie witstaartherten in Irondequoit, New York<sup>6</sup>. Om de populatiegrootte op de helft van de draagkracht van het gebied te houden zou  $\pm 65\%$  van alle reproductieve hinds met een contraceptiemiddel behandeld moeten worden als het middel voor 70% effectief is. Is de effectiviteit van het middel 90%, dan hoeft nog slechts  $\pm 50\%$  van de reproductieve vrouwtjes behandeld te worden. Lijnen geven evenwichtssituaties weer, er is dus geen tijdsaspect in de grafiek opgenomen. Figuur overgenomen uit brontekst.



**Figuur 2.** Voorbeeld van de relatie tussen de populatiedichtheid (x-as) en het gemiddelde aantal uren dat nodig was voor de vangst van dieren (y-as). Gegevens zijn gebaseerd op een populatie witstaartherten in een voorstedelijk gebied in Irondequoit, New York<sup>6</sup>. Des te minder herten er in het gebied waren, des te meer tijd de vangst van een hert kostte. Figuur overgenomen uit brontekst.



## 7.2 Tijdskosten van het toedienen van contraceptie

Naast het aantal dieren dat behandeld moet worden om populatiegroei te controleren is de hoeveelheid tijd die het kost om individuele dieren te behandelen bepalend voor de haalbaarheid van contraceptie in het beheer van wilde hoefdieren. De tijd die het kost om een dier te behandelen, bijvoorbeeld door vangst en injectie of door van een afstand te darten, is afhankelijk van een aantal factoren. Eén factor is de bereikbaarheid van de populatie: leven de dieren in een gemakkelijk of moeilijk te betreden gebied, wordt het darten bemoeilijkt door dichte vegetatie, bevindt de populatie zich op eigen terrein of kunnen dieren uitwijken naar nabijgelegen openbaar of privéterrein<sup>96</sup>. Ook de diersoort speelt hierbij een rol, omdat sommige soorten solitair of in kleine familiegroepen leven, terwijl andere grotere groepen vormen en daardoor gemakkelijker te lokaliseren zijn.

Vervolgens is de mate van gewenning aan de aanwezigheid van mensen van belang, wat bepaalt hoe goed de dieren te benaderen zijn<sup>98</sup>. Om succesvol te kunnen darten moet het dier zich binnen enkele tientallen meters van de schutter bevinden. In studies in stedelijk gebied in de VS waar herten sterk aan mensen gewend waren kostte het darten slechts 1,4 tot 1,8 uur per dier<sup>84,99</sup>. In meer natuurlijke situaties kostte het darten van herten gemiddeld 2,5 tot 10 uur<sup>96</sup> of 5,6 tot 17,5 uur per hert<sup>113</sup>. In het populatiebeheer van wilde paarden kostte het gemiddeld 22 dagen per jaar om 64 paarden te darten<sup>65</sup>.

De effectiviteit van het darten kan sterk worden verhoogd door dieren bij te voeren<sup>98,109,114</sup>. In één studie kostte de vangst van herten 7,5 en 14,5 uur per dier in jaren dat werd bijgevoerd met maïs, en 39 uur per hert in het jaar dat dit niet werd gedaan<sup>113</sup>. Het bijvoeren was effectiever in het vroege voorjaar dan in de herfst vanwege het verminderde voedselaanbod, en ook effectiever in jaren dat er minder natuurlijk voedselaanbod was<sup>113</sup>. Het wisselen van voederlocaties en het darten op plekken met natuurlijk voedselaanbod (eiken, appelbomen) verhoogde ook de effectiviteit van het darten<sup>113</sup>. De hoeveelheid tijd die toediening van contraceptie kost is vergelijkbaar met de tijd die gemeld wordt voor andere methoden van beheer, zoals het afschieten van herten (gemiddeld 10 tot 84 uur per hert)<sup>52,113</sup> of het vangen en herplaatsen van herten (28 uur per hert)<sup>113</sup>.

Een laatste factor die de benodigde hoeveelheid tijd per dier bepaalt is de dichtheid: hoe minder dieren per oppervlakte-eenheid, hoe meer tijd het kost om de dieren te vinden en te behandelen (Figuur 2)<sup>16,96</sup>. In één studie werd de schatting gemaakt dat een populatie die kleiner is dan 25% van de ecologische draagkracht van het gebied, niet efficiënt te behandelen is vanwege het dichtheidseffect<sup>96</sup>. Een ander effect, ook bekend van de jacht, is dat het behandelen van de eerste helft van de populatie relatief weinig tijd kost en de hoeveelheid tijd per dier daarna oploopt<sup>71</sup>. De dieren die vaak naar bijvoederplaatsen komen en makkelijker te benaderen zijn, zijn dan al gedart terwijl de schuwere dieren overblijven<sup>96</sup>. Ook wordt de populatie als geheel steeds schuwer als reactie op het darten. Dit betekent dat de doelstelling om 50-60% van de populatie te behandelen beter haalbaar is dan hogere percentages. Het is te verwachten dat dichtheidseffecten ook sterk merkbaar zijn wanneer toediening van contraceptie plaatsvindt vlak nadat een populatie in aantal is teruggebracht door middel van lethale methoden, omdat de dichtheid dan laag is en bovendien de overgebleven dieren waarschijnlijk de meest schuwe zijn<sup>96</sup>. Hoewel in de meeste studies de

behandeltijd toenam naarmate de dieren vaker gedart waren<sup>65,113</sup> compenseerde in sommige gevallen een toegenomen bedrevenheid van de darters voor dit effect<sup>99</sup>.

### 7.3 De kosten van een contraceptieprogramma

Het kostenplaatje van een contraceptieprogramma is opgebouwd uit verschillende componenten. De belangrijkste zijn de kosten voor uitrusting, aanvullingen en arbeidskosten<sup>113</sup>. Onder uitrusting vallen de eenmalige uitgaven zoals dartzeweren en camouflagemateriaal. Aanvullingen zijn de materialen die constant vervangen of aangevuld moeten worden, zoals darts, contraceptiemiddelen en voer. De arbeidskosten ten slotte zullen in de meeste gevallen de grootste kostenpost zijn, omdat alleen personen die daartoe geautoriseerd zijn dieren mogen darten met contraceptiemiddelen. Dit maakt dat contraceptie bijna altijd duurder zal zijn dan bijvoorbeeld de jacht, waarvan de kosten grotendeels door recreatieve jagers wordt gedragen<sup>45</sup>. De hoogte van de personeelskosten om contraceptiemiddelen toe te dienen is afhankelijk van de tijd die het kost om een dier te behandelen en het aantal dieren dat behandeld moet worden. Zoals beschreven in 7.1 en 7.2 zijn deze twee aspecten op hun beurt afhankelijk van vele factoren, en zullen dus per situatie verschillen.

In box 1 is een volledig budgetoverzicht gegeven van een voorbeeldstudie waarin 30 herten gedurende twee jaar met een kortwerkend PZP-vaccin zijn behandeld<sup>113</sup>. Een deel van de kosten van deze studie zijn niet in andere situaties van toepassing. Zo werden de herten eerst gedart met een verdovingsmiddel om ze te kunnen vangen. Naast de kosten voor verdovingsmiddelen waren voor dit doel ook dartzenders (kosten: \$740) aangeschaft om een verdoofd hert of een verloren dart terug te kunnen vinden. Daarnaast zijn er in het budget verblijfskosten opgenomen van personeel dat tijdens het dartseizoen in een motel overnachtte. Aan de andere kant zijn de personeelskosten, die \$25 per uur bedroegen voor een beheerder en een assistent, naar Nederlandse maatstaven erg laag. Kosten voor bijvoorbeeld administratie, overleg of verzekeringen zijn ook niet meegerekend.

Desalniettemin geeft het budgetoverzicht een goed voorbeeld van de kosten van een contraceptieprogramma. Het blijkt dat de kosten behoorlijk werden opgedreven door het gebruik van een kortwerkend contraceptiemiddel waarbij in het eerste jaar twee vaccinaties gegeven moesten worden, en door het vangen van dieren. De extra tijd die het kostte om de herten te vangen en in het eerste jaar tweemaal te behandelen resulteerde in arbeidskosten die drie maal zo hoog waren als in het tweede jaar. Zouden deze herten eenmalig gedart zijn met een langwerkend middel zoals SpayVac, dan was één vaccinatie van ongeveer \$50 voldoende geweest voor meerdere jaren contraceptie, en zouden met name de personeelskosten veel lager zijn geweest<sup>71</sup>.

Door de hoge personeelskosten en de eenmalige aanschaf van de uitrusting waren de kosten van het eerste jaar 76% van het totale budget (\$25.784), wat neerkomt op een bedrag van \$860 per hert. Na het eerste jaar daalden de kosten substantieel naar \$270 per hert. Bij de meeste contraceptieprogramma's zullen de arbeidskosten de grootste kostenpost zijn, in het voorbeeld 64% van het totale bedrag. De arbeids-, reis- en verblijfskosten samen bedroegen 74% van de kosten in jaar 1 en 83% van de kosten in jaar 2.

**Box 1. Voorbeeldbudget immunocontraceptie witstaartherten**

Tijdens een studie in de VS werden 30 witstaartherten gedurende twee jaar behandeld met immunocontraceptie<sup>113</sup>. In het eerste jaar werden de dieren eenmaal gevangen, geormerkt en met de hand geïnjecteerd en kregen twee weken later een boostervaccin via darts. In het tweede jaar werden alle hinds nogmaals gedart met een boostervaccin. In deze studie bedroegen de kosten voor de uitrusting \$3.765 (zie Tabel 2). De uitrusting bestond uit een nachtkijker (\$1.200), vier automatische voedermachines (\$800), vier dartzenders (\$740), een dartgeweer (\$500), laserlampje voor op het geweer (\$193), camouflagetent (\$182), houten camouflageafscheiding (\$70), oormerkmateriaal (\$50) en een spotlight (\$30). De kosten voor de aanvullingen waren opgebouwd uit de kosten voor voer (\$355 per dartseizoen), chemische immobilisatiemiddelen (\$16 per hert), darts (\$3 per hert), PZP vaccins met adjuvant (\$25 per dosis) en andere aanvullingen zoals injectiespuiten en naalden (\$2 per hert). Verhoogd met 15% om te compenseren voor gemiste schoten en ander materiaalverlies kwam dit in totaal op \$4.264 voor aanvullingen. De arbeidskosten van het contraceptieprogramma werden gesteld op \$25 per uur voor een wildbeheerder en een assistent. De benodigde tijd om de herten te vangen of te darten varieerde per jaar tussen de 5,6 en 39 uur per hert, waarmee de totale arbeidskosten op \$16.275 kwamen in het eerste en \$5.325 in het tweede jaar. Daarnaast werd er nog ruim \$4.000 opgeteld voor reiskosten en het verblijf van personeel in een motel gedurende het dartseizoen. In totaal kwamen de kosten van het tweejarige programma om 30 herten te behandelen daarmee op \$33.833, oftewel \$1.128 per hert.

**Tabel 2.** Budgetoverzicht van een contraceptieprogramma waarbij 30 herten gedurende twee jaar behandeld werden met een kortwerkend PZP-vaccin<sup>113</sup>. Prijzen in Amerikaanse dollars, tussen haakjes de deelkosten als percentage van het jaar- of totale bedrag. Tabel overgenomen uit brontekst.

	Jaar 1		Jaar 2	Totaal
	Vangst + eerste vaccin	Boostervaccin	Boostervaccin	
Uitrusting	\$3.765 (20%)	\$0	\$0	\$3.765 (11%)
Aanvullingen	\$2.908 (15%)	\$0 (opgeteld bij vangst jaar 1)	\$1.356 (17%)	\$4.264 (13%)
Arbeidskosten	\$10.950 (58%)	\$5.325 (79%)	\$5.325 (66%)	\$21.600 (64%)
Verblijfskosten	\$1.050 (5%)	\$1.050 (16%)	\$1.050 (13%)	\$3.150 (9%)
Reiskosten	\$368 (2%)	\$368 (5%)	\$368 (4%)	\$1.104 (3%)
<b>Totaal</b>	\$19.041	\$6.743	\$8.099	\$33.833
Kosten per hert	\$635	\$225	\$270	\$1.128

## 8. Toediening van contraceptiemiddelen

### 8.1 Toediening door injectie, dart, biokogel of IUD

Er zijn verschillende manieren beschikbaar om contraceptiemiddelen toe te dienen. In veel studies worden hoefdieren gevangen, al of niet verdoofd en vervolgens met de hand geïnjecteerd<sup>4,23,32,108,110</sup>. Dit is mogelijk omdat het slechts kleine groepen dieren betreft en wordt vaak gedaan omdat in het kader van het onderzoek dieren geormerkt, gewogen of onderzocht moeten worden. Voor grote populaties van sommige in het wild levende hoefdieren kan vangst, bijvoorbeeld door opdrijving, een geschikte methode zijn, mits het met de juiste kennis en vaardigheid wordt toegepast. Onjuiste uitvoering brengt risico's en stress voor de dieren met zich mee en kost bovendien veel tijd. Het opdrijven en met de hand injecteren wordt bijvoorbeeld toegepast bij grote groepen wilde paarden in de VS, omdat op de vlaktes waar zij leven weinig schuilmogelijkheden zijn om te darten en daarnaast de kans groot is dat een gehele kudde op hol slaat wanneer enkele dieren gedart worden en hiervan schrikken. Daarom worden deze kuddes door achtervolging met een helikopter naar een versperring gedreven en daar afzonderlijk behandeld<sup>61,110,111</sup>. In andere habitats, zoals bij het PZP-behandelprogramma van wilde paarden in Assateague Island National Seashore (zie 6.2), is de vegetatie dicht genoeg om de paarden te kunnen darten. In het genoemde programma wordt gebruik gemaakt van 1.0 cc *Pneu-darts* (Pneu-Dart Inc., Williamsport, Pennsylvania, VS) om PZP vaccins toe te dienen<sup>65</sup>.

Ook voor het behandelen van herten wordt vaak gebruikt gemaakt van darts. *Pneu-dart* systemen worden veel gebruikt en voldoen goed<sup>79,108,109,113,114</sup>. Eén studie maakte gebruik van een *Pax-Arms 0.527-caliber capture gun*<sup>54</sup>. *Telinject* darts in combinatie met een *Telinject* geweer (Saugus, California 91350, VS) hadden een langere injectietijd dan *Pneu-Darts* in combinatie met een *Pneu-Dart* luchtdrukgeweer, en waren daarom minder effectief<sup>58</sup>. De kosten van een dartgeweer variëren van \$200 tot \$700, en \$1000 tot \$2000 voor de nieuwste en meest accurate lange-afstand modellen<sup>93</sup>. Darts worden meestal geschoten vanaf camouflagenetten of -tenten, vanuit auto's, of door 's nacht met spotlights te werken<sup>79,113</sup>. De afstand die overbrugd kan worden varieert met het soort geweer en het volume van de darts. In de literatuur worden afstanden tot 60 m genoemd<sup>65</sup>, het aangegeven maximale bereik van verschillende *Pneu-Dart* dartpistolen en -geweren is 30 tot 90 m met 1.0 cc darts<sup>93</sup>.

Om te kunnen zien welke dieren al behandeld zijn en welke niet, of om dieren die binnen enkele weken een tweede inenting nodig hebben te kunnen herkennen, kan er gebruik gemaakt worden van darts met verfmarkering<sup>108</sup>. Hiervoor zijn bijvoorbeeld vaccinatie/marker-darts beschikbaar van *Pneu-Dart*, die tegelijk het vaccin injecteren en een markering met verfstof op het dier plaatsen<sup>99</sup>. Als kleurstof kunnen de reguliere markeringsstoffen voor vee gebruikt worden. De kosten voor deze darts, die in verschillende volumes kunnen worden besteld, is \$30 per vijf stuks<sup>93</sup>. De kosten voor niet-markerende darts is ongeveer \$12 per vijf stuks<sup>93</sup>.

In enkele studies werd gebruik gemaakt van biokogels (Antech Laboratories Inc., Savoy, Illinois, VS), afgeschoten met luchtdrukgeweren om norgestomet en PGF<sub>2α</sub> aan herten toe te dienen<sup>25,26,48</sup>. Deze kogels hebben een biologisch afbreekbare buitenlaag die oplost na contact met vloeistoffen in het lichaam van het dier, zodat een siliconenstaafje met het

contraceptiemiddel vrijkomt. Biokogels kunnen tot een afstand van 40 m accuraat toegediend worden<sup>48</sup>. De methode was effectief, maar veroorzaakte vanwege de afmetingen van de biokogels (.25 kaliber; 6,4 bij 20 mm) lichamelijk letsel bij behandelde herten<sup>48</sup>. Eén studie testte het gebruik van *intra-uterine devices* (IUD's) bij vijftien wilde paarden<sup>51</sup>. Hoewel de effectiviteit in het eerste jaar redelijk was (80%) daalde dit naar 29%, 14% en 0% in opvolgende jaren. Drie verschillende IUD's werden getest, waarvan alleen de 380 Copper 'T' redelijke contraceptie bood, omdat de andere twee na korte tijd verloren werden.

## 8.2 Immunocontraceptie d.m.v. genetisch gemodificeerde organismen

Sinds enkele jaren wordt er, met name in Australië en Nieuw-Zeeland maar ook in Spanje en de VS, onderzoek gedaan naar nieuwe (en controversiële) manieren van immunocontraceptie door middel van genetisch gemodificeerde vectoren zoals virussen, bacteriën of parasieten<sup>7,22</sup>. Tijdens de genetische modificatie van de vector wordt er in het genoom van bijvoorbeeld een virus of parasitaire worm een gen ingevoegd dat codeert voor de vorming van een reproductief eiwit of hormoon, zoals GnRH of een zona pellucida-eiwit. De vector wordt vrijgelaten en verspreidt zich net als een 'gewone' ziekte door een populatie, eventueel via seksuele overdracht<sup>8,49</sup>. In het lichaam van een geïnfecteerd dier produceert de vector het reproductieve eiwit of hormoon, wat een immuunreactie teweeg brengt. Het mechanisme is dus precies dat van immunocontraceptie, alleen de manier van toedienen is een vector in plaats van een injectie of dart. Voordelen van toediening met vectoren zijn dat het zelfverspreidend is, weinig veldwerk vereist en de uitvoering dus laag in kosten is, en dat ook moeilijk te benaderen dieren of minder toegankelijke gebieden bereikbaar zijn<sup>21</sup>.

Er kleven echter veel nadelen aan deze manier van verspreiden. Zo moeten er genetisch gemodificeerde organismen ontwikkeld worden, wat kostbaar is, en worden er genetisch gemodificeerde organismen vrijgelaten, wat zeer controversieel is. Bovendien is de vector onmogelijk te beheren of te beheersen nadat deze is vrijgelaten<sup>21</sup>. Hoewel vectoren waarschijnlijk een sterke immuunreactie veroorzaken zodat er geen adjuvants meer nodig zijn, kan een populatie resistentie tegen de vector ontwikkelen zodat deze na enige tijd niet meer werkzaam is. Onbedoelde verspreiding of het illegaal loslaten van dergelijke vectoren, zoals gedaan is met een (niet-gemodificeerd) calicivirus vanuit Australië naar Nieuw-Zeeland, is een factor waar rekening mee gehouden moet worden. Eén van de grootste zorgen is daarnaast dat de vector zich niet zal houden aan de doelpopulatie, maar zich zal verspreiden naar andere populaties van dezelfde soort, naar verwante soorten (wellicht gedomesticeerde dieren die van economisch belang zijn), of naar geheel onverwante soorten zoals de mens<sup>21</sup>. Ook als een virus soortspecifiek is biedt dat geen zekerheid op lange termijn, omdat virussen recombineren en een hoge mutatiesnelheid hebben, en daardoor zeer snel kunnen evolueren. Begrijpelijkerwijs wordt deze manier van toediening daarom door sommige onderzoekers sterk afgeraden<sup>86</sup>. Daarnaast zal de regelgeving in Nederland voor het vrijlaten van genetisch gemodificeerde vectoren beslist niet soepel zijn.

Een andere mogelijkheid is om voedsel genetisch te modificeren zodat het reproductieve eiwitten of hormonen produceert en als immunocontraceptiemiddel fungeert. In Nieuw-Zeeland bijvoorbeeld zijn wortels gemodificeerd om zona pellucida-eiwitten van de

voskoesoe (brushtail possum, *Trichosurus vulpecula*) te produceren, een soort die geïntroduceerd is vanuit Australië en een plaag is in Nieuw-Zeeland<sup>8</sup>. Het blijkt dat het plantenmateriaal de zona pellucida-eiwitten op een of andere manier beschermt tegen vertering. Gemodificeerd voedsel is niet zelfverspreidend zoals virussen of parasieten, waardoor de toediening meer werk kost maar wel beter gestuurd kan worden en dus veiliger is. Ook bij het neerleggen van voedsel is het echter moeilijk te controleren welke dieren ervan eten.



*Witstaarthert dat op het achterbeen geraakt is door een vaccinatie / marker-dart.*

## 9. Ethische aspecten van contraceptie

Veel verschillende groepringen hebben een mening over of en hoe hoefdierpopulaties in Nederland beheerd moeten worden, van landbouwers tot natuurbeschermers, van beheerders tot recreanten. Discussies over het beheer van hoefdierpopulaties worden gekarakteriseerd door zowel praktische als emotionele argumenten<sup>59</sup>. Onder mensen die verschillende meningen hebben over hoe hoefdieren beheerd moeten worden bestaat meestal overeenstemming wat betreft de praktische aspecten van beheer<sup>68</sup>. Bijna iedereen is het er bijvoorbeeld over eens dat, onafhankelijk van welke methode van populatiebeheer gekozen wordt, de methode effectief moet zijn, praktisch, veilig voor mens en milieu, en niet teveel mag kosten<sup>68</sup>; criteria die ook door wetenschappers op het gebied van contraceptie zijn vastgesteld (Tabel 1).

Onenigheid over de geschiktheid van verschillende beheersmethoden komt vooral voort uit hoe mensen de ethische aspecten van populatiebeheer beschouwen en waarderen. Een toenemend deel van de bevolking is van mening dat jacht en andere lethale beheersmaatregelen geen humane manieren van beheer zijn, vanwege het lijden dat het bij dieren kan veroorzaken of omdat het onethisch gevonden wordt om dieren te doden omdat zij mensen tot last zijn<sup>68,97</sup>. Aan de andere kant staan mensen die in de jacht een traditie zien, die er plezier aan beleven of die twijfelen aan de effectiviteit van contraceptie en daarom tegen het gebruik ervan zijn. Ook zijn er mensen tegen contraceptie omdat zij het juist onethisch vinden om het natuurlijke gedrag van dieren te belemmeren en omdat het wilde dieren zou domesticeren of minder 'wild' zou maken<sup>68</sup>.

In dergelijke discussies zijn '(on)ethisch' en '(in)humaan' veel gebruikte, maar grotendeels ongedefinieerde termen, wat het moeilijk maakt om verschillende methoden te vergelijken. Over het algemeen wordt onder humaan populatiebeheer verstaan: een methode die geen overmatig pijn of lijden veroorzaakt, geen overmatige fysiologische stress, en het gedrag en sociale organisatie van dieren zo min mogelijk beïnvloedt<sup>55,79</sup>. Maar ook met een dergelijke specificatie blijft het moeilijk om methoden op humaniteit te beoordelen. Bijvoorbeeld, om contraceptiemiddelen toe te dienen worden hoefdieren opgejaagd, wat stressvol is, en geschoten met darts of biokogels, wat pijn en letsel veroorzaakt. Zijn deze pijn en stress nog binnen de grenzen om contraceptie een humane methode te noemen? Om een dergelijke vraag te beantwoorden is het van belang om in gedachten te houden met welke alternatieve methode contraceptie vergeleken wordt, aangezien niets doen vaak geen optie is. Als het alternatief de jacht is om een deel van de populatie te verwijderen, dienen de tijdelijke pijn en stress veroorzaakt door contraceptie niet alleen op zichzelf beoordeeld te worden, maar ook in relatie tot de pijn, stress en het doden van dieren ten gevolge van de jacht<sup>63</sup>.

Daarnaast is er nog de kwestie van de integriteit van het dier: de invloed op het gedrag en de sociale structuur. Hoewel het wenselijk is dat contraceptie geen of minimaal effect op gedrag en structuur heeft (Tabel 1), is het per definitie onmogelijk om hieraan te voldoen. Ieder contraceptiemiddel dat effectief is in het tegengaan van reproductie zal dracht voorkomen en daarmee het ontstaan van moeder-jongbanden en het gehele scala aan bijbehorend gedrag<sup>35</sup>. Daarnaast verlengen sommige contraceptiemiddelen de bronsttijd, wat de normale jaarlijkse cyclus van een hoefdierpopulatie verstoort, terwijl andere middelen elk

seksueel gedrag onderdrukken en daarmee een belangrijk deel van het natuurlijke gedrag uitschakelen. Deze gedragsveranderingen zijn onwenselijk, maar grotendeels onvermijdelijk. Evenzo zijn de bijwerkingen van sommige middelen, zoals doodgeboren jongen of het verlies van secundaire geslachtskenmerken, de feitelijke mechanismen volgens welke deze middelen functioneren, en daarom inherent aan het gebruik ervan<sup>86</sup>.

Ook hierbij is het weer van belang om de vergelijking met alternatieve methoden te maken en contraceptie niet op zichzelf te beoordelen. De jacht bijvoorbeeld verstoort ook de sociale structuur van populaties, zowel de opbouw van de populatie (leeftijdsopbouw en sekseratio) als de ruimtelijke verspreiding van dieren<sup>75,101</sup>. Dieren kunnen zich voortplanten, maar de meeste individuen bereiken slechts een fractie van de leeftijd die zij zouden kunnen bereiken als er geen jacht plaatsvond. Andere ethische aspecten van de jacht zijn bijvoorbeeld het verkeerd raken van dieren waardoor deze verwond raken, of het afschieten van zogende moederdieren waardoor jongen verhongeren. Het verschil van persoon tot persoon of de nadelen van contraceptie of lethale methoden uiteindelijk zwaarder wegen<sup>68</sup>.

Het afwegen van verschillende methoden van populatiebeheer is een kwestie van het prioriteren van verschillende waarden en criteria, en het evalueren van zowel gewenste als ongewenste effecten. Gekeken naar de praktische en ethische aspecten van een specifieke situatie zullen beheerders van wild moeten beslissen of contraceptie, jacht of een andere methode het meest geschikt is om de beheersdoelen te bereiken, of wellicht een combinatie van verschillende methoden. Elke situatie vereist een specifieke evaluatie, omdat andere omstandigheden (diersoort, populatiegrootte, gebied, doelstelling, budget, politieke of publieke druk, etc.) ertoe zullen leiden dat de argumenten verschillend gewogen worden<sup>35</sup>. In de VS bijvoorbeeld was omkeerbaarheid van groot belang bij het toepassen van contraceptie bij wilde paarden, terwijl het voor witstaartherten minder betekenis had<sup>61</sup>. Ook vinden sommigen dat er andere criteria gelden voor dieren die door beheerders in een gebied zijn uitgezet, dan voor dieren die zich uit eigen beweging hebben gevestigd en zich over een groter gebied kunnen verspreiden. Uiteindelijk is het aan beheerders om een afweging te maken en te bepalen welke methode van beheer in hun situatie het best passend is.



## 10. Referenties

1. Artois M (1997). Managing problem wildlife in the 'Old World': a veterinary perspective. *Reproduction, Fertility and Development* 9: 17-25.
2. Baker DL, Wild MA, Conner MM, Ravivarapu HB, Dunn RL en Nett TM (2002). Effects of GnRH agonist (leuprolide) on reproduction and behavior in female wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*). *Reproduction (Suppl.)* 60: 155-167.
3. Baker DL, Wild MA, Conner MM, Ravivarapu HB, Dunn RL en Nett TM (2004). Gonadotropin-releasing hormone agonist: a new approach to reversible contraception in female deer. *Journal of Wildlife Diseases* 40: 713-724.
4. Baker DL, Wild MA, Hussein MD, Dunn RL en Nett TM (2005). Evaluation of remotely delivered leuprolide acetate as a contraceptive agent in female elk (*Cervus elaphus nelsoni*). *Journal of Wildlife Diseases* 41: 768-767.
5. Ballou JD, Traylor-Holzer K, Turner A, Malo AF, Powell D, Maldonado J en Eggert L (2008). Simulation model for contraceptive management of the Assateague Island feral horse population using individual-based data. *Wildlife Research* 35: 502-512.
6. Balser DS (1964). Management of predator populations with antifertility agents. *The Journal of Wildlife Management* 28: 352-358
7. Barlow ND (1997). Modeling immunocontraception in disseminating systems. *Reproduction, Fertility and Development* 9: 51-60.
8. Barlow ND (2000). The ecological challenge of immunocontraception: editor's introduction. *Journal of Applied Ecology* 37: 897-902.
9. Becker SE en Katz LS (1994). Effects of exogenous prostaglandin-F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) on pregnancy status in white-tailed deer. *Zoo Biology* 13: 315-323.
10. Becker SE, Enright WJ en Katz LS (1999). Active immunization against gonadotropin-releasing hormone in female white-tailed deer. *Zoo Biology* 18: 385-396.
11. Boone JL en Wiegert RG (1994). Modeling deer herd management: sterilization is a viable option. *Ecological Modelling* 72: 175-186.
12. Botha AE, Schulman ML, Bertschinger HJ, Guthrie AJ, Annandale CH en Hughes SB (2008). The use of a GnRH vaccine to suppress mare ovarian activity in a large group of mares under field conditions. *Wildlife Research* 35: 548-554.
13. Bradford JG en Hobbs NT (2008). Regulating overabundant ungulate populations: An example for elk in Rocky Mountain National Park, Colorado. *Journal of Environmental Management* 86: 520-528.
14. Bradley, M. P. (1994). Experimental strategies for the development of an immunocontraceptive vaccine for the European red fox, *Vulpes vulpes*. *Reproduction, Fertility and Development* 6: 307-317
15. Brown RG, Bowen WD, Eddington JD, Kimmins WC, Mezei M, Parsons JL and Pohajdak B (1997). Evidence for a long-lasting single administration vaccine in wild grey seals. *Journal of Reproductive Immunology* 35: 43-51.
16. Brown TL, Decker DJ, Riley SJ, Enck JW, Lauber TB, Curtus PD en Mattfield GF (2000). The future of hunting as a mechanism to control white-tailed deer populations. *Wildlife Society Bulletin* 28: 797-807
17. Chapel HM en August PJ (1976). Report of nine cases of accidental injury to man with

- Freund's complete adjuvant. *Clinical and Experimental Immunology* 24: 538-541.
18. Conner MM, Baker DL, Wild MA, Powers JG, Hussain MD, Dunn RL en Nett TM (2007). Fertility control in free-ranging elk using gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide: effects on reproduction, behaviour, and body condition. *The Journal of Wildlife Management* 71: 2346-2356.
  19. Cooper DW en Herbert CA (2001). Genetics, biotechnology and population management of over-abundant mammalian wildlife in Australasia. *Reproduction, Fertility and Development* 13: 451-458.
  20. Cooper DW en Larsen E (2006). Immunocontraception of mammalian wildlife: ecological and immunogenetic issues. *Reproduction* 132: 821-828.
  21. Courchamp F en Cornell SJ (2000). Virus-vectored immunocontraception to control feral cats on islands: a mathematical model. *Journal of Applied Ecology* 37: 903-913.
  22. Cowan PE, Grant WN en Ralston M (2008). Assessing the suitability of the parasitic nematode *Parastrongyloides trichosuri* as a vector for transmissible fertility control of brushtail possums in New Zealand – ecological and regulatory considerations. *Wildlife Research* 35: 573-577.
  23. Deigert FA, Duncan AE, Frank KM, Lyda RO en Kirkpatrick JF (2003). Immunocontraception of captive exotic species. III. Contraception and population management of fallow deer (*Cervus dama*). *Zoo Biology* 22; 261-268.
  24. Dell’Omo G en Palmery M (2002). Fertility control in vertebrate pest species. *Contraception* 65: 273-275.
  25. DeNicola AJ, Kesler DJ en Swihart RK (1997a). Dose determination and efficacy of remotely delivered norgestomet implants on contraception of white-tailed deer. *Zoo Biology* 16: 31-37.
  26. DeNicola AJ, Kesler DJ en Swihart RK (1997b). Remotely delivered prostaglandin F2 $\alpha$  implants terminate pregnancy in white-tailed deer. *Wildlife Society Bulletin* 25: 527-531.
  27. D’Occhio MJ, Fordyce G, Whyte TR, Jubb TF, Fitzpatrick LA, Cooper NJ, Aspden WJ, Bolam MJ en Trigg TE (2002). Use of GnRH agonist implants for long-term suppression of fertility in extensively managed heifers and cows. *Animal Reproduction Science* 74: 151-162.
  28. Dunn RL, English JP, Cowan DR en Vanderbilt DP (1994). Biodegradable in situ forming implants and methods of producing the same. US patent no. 5 278 201.
  29. Eagle TC, Asa CS, Plotka ED, Sniff DB en Tester JR (1993). Efficacy of dominant male sterilization to reduce reproduction in feral horses. *Wildlife Society Bulletin* 21: 116-121.
  30. Elhay M, Newbold A, Britton A, Turley P, Dowsett K en Walker J (2007). Suppression of behavioural and physiological oestrus in the mare by vaccination against GnRH. *Australian Veterinary Journal* 85: 39-45.
  31. Fagerstone KA, Miller LA, Eisemann JD, O’Hare JR en Gionfriddo JP (2008). Registration of wildlife contraceptives in the United States of America, with OvoControl and GonaCon immunocontraceptive vaccines as examples. *Wildlife Research* 35: 586-592.
  32. Fraker MA, Brown RG, Gaunt GE, Kerr JA en Pohajdak B (2002). Long-lasting, single-dose immunocontraception of feral fallow deer in British Columbia. *The Journal of Wildlife Management* 66: 1141-1147.
  33. Garrott RA (1991). Feral horse fertility control: potential and limitations. *Wildlife Society*

- Bulletin 19: 52-58.
34. Garrott RA en Siniff DB (1992). Limitations of male-oriented contraception for controlling feral horse populations. *Journal of Wildlife Management* 56: 456-464.
  35. Garrott RA (1995). Effective management of free-ranging ungulate populations using contraception. *Wildlife Society Bulletin* 23: 445-452.
  36. Gionfriddo JP, Eisemann JD, Sullivan KJ, Healy RS, Miller LA, Fagerstone KA, Engeman RM en Yoder CA (2009). Field test of a single-injection gonadotrophin-releasing hormone immunocontraceptive vaccine in female white-tailed deer. *Wildlife Research* 36: 177-184.
  37. Greer KR, Hawkins WW Jr. en Catlin JE (1968). Experimental studies of controlled reproduction in elk (wapiti). *The Journal of Wildlife Management* 32: 368-376.
  38. Gross JE (2000). A dynamic simulation model for evaluating effects of removal and contraception on genetic variation and demography of Pryor Mountain wild horses. *Biological Conservation* 96: 319-330.
  39. Hanly WC, Bennet BT en Artwohl JE (1995). Overview of adjuvants. Samenvatting van een serie artikelen over adjuvants, <http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody/overview.htm>
  40. Harder JD en Peterle TJ (1974). Effect of diethylstilbestrol on reproductive performance of white-tailed deer. *The Journal of Wildlife Management* 38: 183-196.
  41. Hazum E en Conn P (1988). Molecular Mechanism of Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Action. I. The GnRH Receptor. *Endocrine Reviews* 9: 379-386.
  42. Heilmann TJ, Garrott RA, Cadwell LL en Tiller BL (1998). Behavioral response of free-ranging elk treated with an immunocontraceptive vaccine. *The Journal of Wildlife Management* 62: 243-250.
  43. Herbert CA en Trigg TE (2005). Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science* 88: 141-153.
  44. Hernandez S, Locke SL, Cook MW, Harveson LA, Davis DS, Lopez RR, Silvy NJ en Fraker MA (2006). Effects of SpayVac® on urban female white-tailed deer movements. *Wildlife Society Bulletin* 34: 1430-1434.
  45. Hobbs NT, Bowden DC en Baker DL (2000). Effects of fertility control on populations of ungulates: general, stage-structured models. *The Journal of Wildlife Management* 64: 473-491.
  46. Hone J (1992). Rate of increase and fertility control. *Journal of Applied Ecology* 29: 695-698.
  47. IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee) Iowa State University (2009), Committee Policy on Freund's Complete Adjuvant <http://www.compliance.iastate.edu/iacuc/policies/committee.html>, laatst bekeken 17 november 2009.
  48. Jacobsen NK, Jessup DA en Kesler DJ (1995). Contraception of captive black-tailed deer by remotely delivered norgestomet ballistic implants. *Wildlife Society Bulletin* 23: 718-722.
  49. Ji W, Clout MN en Sarre SD (2000). Responses of male brushtail possums to sterile females: implications for biological control. *Journal of Applied Ecology* 37: 926-934.
  50. Killian G, Miller L, Rhyan D en Doten H (2006). Immunocontraception of Florida feral swine with a single-dose GnRH vaccine. *American Journal of Reproductive Immunology* 55: 378-384.

51. Killian G, Thain D, Diehl NK, Rhyan J en Miller L (2008). Four-year contraception rates of mares treated with single injection porcine zona pellucida and GnRH vaccines and intrauterine devices. *Wildlife Research* 35: 531-539.
52. Kilpatrick HJ en Walter WD (1999). A controlled archery deer hunt in a residential community: cost, effectiveness, and deer recovery rates. *Wildlife Society Bulletin* 27: 115-123.
53. Kirkpatrick JF and Turner JW Jr. (1985). Chemical fertility control and wildlife management. *BioScience* 35: 485-491.
54. Kirkpatrick JF, Liu IKM en Turner JW Jr. (1990). Remotely-delivered immunocontraception in feral horses. *Wildlife Society Bulletin* 18: 326-330.
55. Kirkpatrick JF en Turner JW Jr. (1991). Reversible contraception in nondomestic animals. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 22: 392-408.
56. Kirkpatrick JF, Liu IKM, Turner JW Jr., Naugle R en Keiper R (1992). Long-term effects of porcine zonae pellucidae immunocontraception on ovarian function in feral horses (*Equus caballus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 94: 437-444.
57. Kirkpatrick JF, Zimmermann W, Kolter L, Liu IKM en Turner JW Jr. (1995). Immunocontraction of captive exotic species. I. Przewalski's horses (*Equus przewalski*) and banteng (*Bos javanicus*). *Zoo Biology* 14: 403-416.
58. Kirkpatrick JF, Calle PP, Kalk P, Liu IKM en Turner JW Jr. (1996). Immunocontraception of captive exotic species. II. Formosan sika deer (*Cervus nippon taiouanus*), axis deer (*Cervus axis*), himalayan tahr (*Hemitragus jemlahicus*), Roosevelt elk (*Cervus elaphus roosevelti*), Reeves' muntjac (*Muntiacus reevesi*), and sambar deer (*Cervus unicolor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 27: 482-495.
59. Kirkpatrick JF en Turner JW Jr. (1997). Urban deer contraception: the seven stages of grief. *Wildlife Society Bulletin* 25: 515-519.
60. Kirkpatrick JF, Turner JW Jr., Liu IKM, Fayrer-Hosken R en Rutberg AT (1997a). Case studies in wildlife immunocontraception: wild and feral equids and white-tailed deer. *Reproduction, Fertility and Development* 9: 105-110.
61. Kirkpatrick JF, Turner JW Jr. en Liu IKM (1997b). Contraception of wild and feral equids. In: Kreeger TJ, tech. coord. *Contraception in Wildlife Management*. Technical Bulletin no. 1853. Washington, D.C., U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service: 161-169.
62. Kirkpatrick JF en Turner A (2003). Absence of effects from immunocontraception on seasonal birth patterns and foal survival among Barrier Island wild horses. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 6: 301-308.
63. Kirkpatrick JF (2007). Measuring the effects of wildlife contraception: the argument for comparing apples with oranges. *Reproduction, Fertility and Development* 19: 548-552.
64. Kirkpatrick JF en Turner A (2007). Immunocontraception and increased longevity in Equids. *Zoo Biology* 26: 237-244.
65. Kirkpatrick JF en Turner A (2008). Achieving population goals in a long-lived wildlife species (*Equus caballus*) with contraception. *Wildlife Research* 35: 513-519.
66. Kramer K, Groot Bruinderink GWTA en Prins HHT (2006). Spatial interactions between ungulate herbivory and forest management. *Forest Ecology and Management* 226: 238-247.

67. Kuiters AT en Slim PA (2002). Regeneration of mixed deciduous forest in a Dutch forest-heathland, following a reduction of ungulate densities. *Biological Conservation* 105: 65-74.
68. Lauber TB, Knuth BA, Tantillo JA en Curtis PD (2007). The role of ethical judgments related to wildlife fertility control. *Society and Natural Resources* 20: 119-133.
69. LAR (Laboratory Animal Resources) Iowa State University (2009), [http://lar.iastate.edu/index.php?option=com\\_content&view=article&id=214:recommended-alternatives-to-freunds-complete-adjutant&catid=36:home&Itemid,last=233,laatst geupdate 26 februari 2009, laatst bekeken 17 november 2009](http://lar.iastate.edu/index.php?option=com_content&view=article&id=214:recommended-alternatives-to-freunds-complete-adjutant&catid=36:home&Itemid,last=233,laatst%20geupdate%2026%20februari%202009,laatst%20bekeken%2017%20november%202009).
70. Liu IKM, Bernoco M en Feldman M (1989). Contraception in mares heteroimmunized with pig zonae pellucidae. *Journal of Reproduction and Fertility* 85: 19-29.
71. Locke SL, Cook MW, Harveson LA, Davis DS, Lopez RR, Silvy NJ en Fraker MA (2007). Effectiveness of SpayVac® for Reducing White-tailed Deer Fertility. *Journal of Wildlife Diseases* 43: 726-730.
72. Loague P (1993). Pest control and animal welfare. *New Zealand Journal of Zoology* 20: 253-256.
73. Lyda RO, Hall JR en Kirkpatrick JF (2005). A comparison of Freund's Complete and Freund's Modified Adjuvants used with a contraceptive vaccine in wild horses (*Equus caballus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 36: 610-616.
74. Massei G en Genov PV (2006). The environmental impact of wild boar. *Galemys* 16: 135-145.
75. Massei G, Cowan DP, Coats J, Gladwell FLane JE en Miller LA (2008). Effect of the GnRH vaccine GonaCon on the fertility, physiology and behaviour of wild boar. *Wildlife Research* 35: 540-547.
76. Matschke GH (1977a). Microencapsulated diethylstilbestrol as an oral contraceptive in white-tailed deer. *The Journal of Wildlife Management* 41: 87-91.
77. Matschke GH (1977b). Fertility control in white-tailed deer by steroid implants. *The Journal of Wildlife Management* 41: 731-735.
78. McShea WJ, Monfort SL, Hakim S, Kirkpatrick JF, Liu IKM, Turner JW Jr., Chassy L, en Munson L (1996). Immunocontraceptive efficacy and the impact of contraception on the reproductive behaviors of white-tailed deer. *The Journal of Wildlife Management* 60: 23-34.
79. McShea WJ, Monfort SL, Hakim S, Kirkpatrick J, Liu I, Turner JW Jr., Chassy L en Munson L (1997). The effect of immunocontraception on the behaviour and reproduction of white-tailed deer. *The Journal of Wildlife management* 61: 560-569.
80. Miller LA, Johns BE en Elias DT (1998). Immunocontraception as a wildlife management tool: some perspectives. *Wildlife Society Bulletin* 26: 237-243.
81. Miller LA, Johns BE en Killian GJ (2000a). Immunocontraception of white-tailed deer with GnRH vaccine. *American Journal of Reproductive Immunology* 44: 266-274.
82. Miller LA, Johns BE en Killian GJ (2000b). Long-term effects of PZP immunization on reproduction in white-tailed deer. *Vaccine* 18: 568-574.
83. Miller LA, Crane K, Gaddis S en Killian GJ (2001). Porcine zona pellucida immunocontraception: long-term health effects on white-tailed deer. *The Journal of*

- Wildlife Management 65: 941-945.
84. Miller LA, Gionfriddo JP, Fagerstone KA, Rhyan JC en Killian GJ (2008). The single-shot GnRH immunocontraceptive vaccine (GonaCon™) in white-tailed deer: comparison of several GnRH preparations. *American Journal of Reproductive Immunology* 60: 214-223.
  85. Nave CD, Coulson G, Poiani A, Shaw G en Renfree MB (2002). Fertility control in the eastern grey kangaroo using levonorgestrel implants. *The Journal of Wildlife Management* 66: 470-477.
  86. Nettles VF (1997). Potential consequences and problems with wildlife contraceptives. *Reproduction, Fertility and Development* 9: 137-143.
  87. Nie GY, Butt AR, Salamonsen LA en Findlay JK (1997). Hormonal and non-hormonal agents at implantation as targets for contraception. *Reproduction, Fertility and Development* 9: 65-76.
  88. Oord, JG (2009). Handreiking faunaschade. Faunafonds, Onkenhout Groep Almere.
  89. Plotka ED, Seal US, Verme LJ en Ozoga JJ (1980). Reproductive steroids in deer. III. Luteinizing hormone, estradiol and progesterol around estrus. *Biology of Reproduction* 22: 576-581.
  90. Plotka ED, Eagle TC, Vevea ND, Koller AL, Siniff DB, Tester JR en Seal US (1988). Effects of hormone implants on estrus and ovulation in feral mares. *Journal of Wildlife Diseases* 24: 507-514.
  91. Plotka ED, Vevea ND, Eagle TC, Tester JR en Siniff DB (1989). Effective contraception of feral horses using homogenous silastic implants ethinylestradiol (EE2) or EE2 plus progesterone. *Biology and Reproduction* 40 (suppl. 1): 169.
  92. PNC Inc. (2009). <http://www.pzpinfo.org/obtaining.html>. Laatst bekeken 18 november 2009.
  93. Pneu-Dart Inc. (2009). [www.penudart.com](http://www.penudart.com). Laatst bekeken 25 november 2009.
  94. Putman RJ, Langbein J, Hewison AJM en Sharma SK (1996). Relative roles of density-dependent and density-independent factors in population dynamics of British deer. *Mammal Review* 26: 81-101.
  95. Rieger UM, Gugger CY, Farhadi J, Heider I, Andresen R, Pierer G en Scheufler O (2007). Prognostic Factors in Necrotizing Fasciitis and Myositis: Analysis of 16 Consecutive Cases at a Single Institution in Switzerland. *Annals of Plastic Surgery* 58: 523-530.
  96. Rudolph BA, Porter WF en Underwood HB (2000). Immunocontraception for managing suburban white-tailed deer in Irondequoit, New York. *The Journal of Wildlife Management* 64: 463-473.
  97. Rutberg AT (1997). Lessons from the Urban Deer Battlefield: A Plea for Tolerance. *Wildlife Society Bulletin* 25: 520-523.
  98. Rutberg AT, Naugle RE, Thiele LA en Liu IKM (2004). Effects of immunocontraception on a suburban population of white-tailed deer *Odocoileus virginianus*. *Biological Conservation* 116: 243-250.
  99. Rutberg AT en Naugle RE (2008). Population-level effects of immunocontraception in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Wildlife Research* 35: 494-501.
  100. Seagle SW en Close JD (1996). Modeling white-tailed deer *Odocoileus virginianus* population control by contraception. *Biological Conservation* 76: 87-91.
  101. Seal US (1991). Fertility control as a tool for regulating captive and free-ranging wildlife

- populations. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 22: 1-5.
102. Smith GC en Cheeseman CL (2002). A mathematical model for the control of diseases in wildlife populations: culling, vaccination and fertility control. *Ecological Modeling* 150: 45-53.
103. Takagi J, Araki Y, Dobashi M, Imai Y, Hiroi M, Tonosaki A en Sendo F (1988). The development of porcine zona pellucida using mono-clonal antibodies: I. Immunochemistry and light microscopy. *Biology of Reproduction* 40: 1095-1102.
104. Turner JW Jr. en Kirkpatrick JF (1986). Fertility control as a management tool for feral horse populations. *Journal of Equine Veterinary Science* 6: 278-284.
105. Turner JW Jr. en Kirkpatrick JF (1991). New developments in feral horse contraception and their potential application to wildlife. *Wildlife Society Bulletin* 19: 350-359.
106. Turner JW Jr., Liu IKM, Flanagan DR, Rutberg AT en Kirkpatrick JF (1991). Immunocontraception in feral horses: one inoculation provides one year of infertility. *The Journal of Wildlife Management* 65: 235-241.
107. Turner JW Jr., Liu IKM en Kirkpatrick JF (1992). Remotely delivered immunocontraception in captive white-tailed deer. *The Journal of Wildlife Management* 56: 154-157.
108. Turner JW Jr., Kirkpatrick JF en Liu IKM (1996a). Effectiveness, reversibility, and serum antibody titers associated with immunocontraception in captive white-tailed deer. *The Journal of Wildlife Management* 60: 45-51.
109. Turner JW Jr., Liu IKM en Kirkpatrick JF (1996b). Remotely delivered immunocontraception in feral burro's (*Equus asinus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 107: 31-35.
110. Turner JW Jr., Liu IKM, Rutberg AT en Kirkpatrick JF (1997). Immunocontraception limits foal production in free-roaming feral horses in Nevada. *The Journal of Wildlife Management* 61: 873-880.
111. Turner JW Jr., Liu IKM, Flanagan DR, Rutberg AT en Kirkpatrick JF (2001). Immunocontraception in feral horses: one inoculation provides one year of infertility. *The Journal of Wildlife Management* 65: 235-241.
112. Turner JW Jr., Rutberg AT, Naugle RE, Kaur MA, Flanagan DR, Bertschinger HJ en Liu IKM (2008). Controlled-release components of PZP contraceptive vaccine extend duration of infertility. *Wildlife Research* 35: 555-562.
113. Walter WD, Perkins PJ, Rutberg AT en Kilpatrick HJ (2002). Evaluation of immunocontraception in a free-ranging suburban white-tailed deer herd. *Wildlife Society Bulletin* 30: 186-192.
114. Walter WD, Kilpatrick HJ en Gregonis MA (2003). Does immunocontraception improve condition of free-ranging white-tailed deer? *The Journal of Wildlife Management* 67: 762-766.
115. White LM, Warren RJ en Fayer-Hosken RA (1994). Levonorgestrel implants as a contraceptive in captive white-tailed deer. *Journal of Wildlife Diseases* 30: 241-246.

Afbeeldingen titelpagina:

Edelhert: <http://members.home.nl/pretzels/wild/wild.htm>

Konikpaarden: Francois Roland, <http://users.skynet.be/wielewaal/Roland-Francois.htm>

Ree: <http://www.luitenwild.nl/assortiment/ree.php>,

Everzwijn: <http://www.sjamaanrudj.be/everzwijn.htm>

**Bijlage I.** Samenvatting van de methoden en resultaten van enkele studies die gebruik maakten van leuprolide, GnRH-immunisatie of PZP-immunisatie. Alleen studies waarin de effectiviteit van contraceptie gemeten is aan de hand van percentages succesvolle dracht zijn in de tabel opgenomen.

Diersoort	Aantal dieren <sup>a</sup>	Contraceptie-middel <sup>b</sup> (+ adjuvant)	Dosering <sup>c</sup>	Effectiviteit: % onvruchtbaar <sup>d</sup>	Toediening	Studie
Muieldierhert	5	Leuprolide ATRIGEL®	10 mg (90 dagen controlled-release)	100% over 1 jaar	ATRIGEL® toedienings- systeem	3
Edelhert	6	Leuprolide	32,5 mg (180 dagen controlled-release)	100% over 1 jaar	Darts	4
Edelhert	17	Leuprolide ATRIGEL®	32,5 mg (90 dagen controlled-release)	100% over 1 jaar	Injectie	18
Rund	99	Deslorelin	12 mg	91% over 1 jaar	Implantaat	27
Rund	165	Deslorelin	8 mg	82% over 1 jaar	Implantaat	27
Witstaarthert	8	GnRH (+ FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin: 500 µg GnRH + 500 ml FCA. Boostervaccins na 4 weken en 1 jaar: 300 µg GnRH + 500 ml FCA.	88% over 4 jaar	Injectie	81
Witstaarthert	5 (4)	GonaCon (+ AdjuVac)	850 µg (425 µg GnRH-KLH + 425 µg AdjuVac)	100% jr 1; 60% jr 2; 50% jr 3 en 4	Injectie	83
Witstaarthert	5	GonaCon (+ AdjuVac)	Twee maal 1000 µg in het 1 <sup>e</sup> jaar (500 µg GnRH- KLH + 500 µg AdjuVac)	100% jr 1 en 2; 80% jr 3; 60% jr 4 en 5	Injectie	83
Witstaarthert	5	GonaCon-B (+ AdjuVac)	1000 µg (500 µg GnRH-B + 500 µg AdjuVac)	100% jr 1 en 2; 80% jr 3,4,5	Injectie	83



Witstaarthert	26	GonaCon (+ AdjuVac)	1 ml	88% over 1 jaar	Injectie	36
Everzwijn	11	GnRH-KLH (+ AdjuVac)	1000 µg	78% over 1 jaar	Injectie	50
Everzwijn	11	GnRH vaccin (+ AdjuVac)	2000 µg	100% over 1 jaar	Injectie	50
Everzwijn	6	GonaCon (+ AdjuVac)	1000 µg	100% over 1 jaar	Injectie	75
Wild paard	15	GonaCon (+ AdjuVac)	1800 µg (4 paarden 2800 µg)	94% jr 1; 64% jr 2 57% jr 3; 43% jr 4	Injectie	51
Przewalski paard	3	PZP (+ FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 65 µg met FCA; boosters 65 µg met FIA na 2 en 6 weken, bij 1 paard ook na 7 en 17 maanden	100% over 3 jaar	Injectie	57
Banteng rund	3	PZP (+ FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 65 µg met FCA; boosters 65 µg met FIA na 2 en 6 weken	100% over 3 jaar	Injectie	57
Banteng rund	2	PZP (+ FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 35 µg met FCA; boosters 35 µg met FIA na 2 en 6 weken	50% over 1 jaar	Injectie	57
Wild paard	26	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 64.3 µg met FCA; boosters 64.3 µg met FIA na 2 weken, bij 18 paarden ook na 6 weken	100% over 1 jaar (2 boosters) of 88% over 1 jaar (1 booster)	Injectie en dart	54
Edelhert	9	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 64.3 µg met FCA; boosters 64.3 µg met FIA na 6 en 18 maanden	Na 1 <sup>e</sup> booster 80%; na 2 <sup>e</sup> booster 100%	Injectie en dart	42

Witstaarthert	7	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 64.3 µg met FCA; boosters 64.3 µg met FIA na 3 en 6 weken	100% over 1 jaar	Dart	107
Witstaarthert	5	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 64.3 µg met FCA; boosters 64.3 µg met FIA na 3 en 6 weken en 1 jaar	100% over 2 jaar	Injectie	108
Witstaarthert	8	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 64.3 µg met FCA; boosters 64.3 µg met FIA na 3 weken	100% over 1 jaar	Injectie	108
Wilde ezel	13	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 65 µg met FCA; boosters 65 µg met FIA na 3 weken en 1 jaar	100% over 1 jaar na de laatste booster	Dart	109
Wilde ezel	3	PZP (+FCA/FIA)	1 <sup>e</sup> vaccin 130 µg met FCA (65 µg PZP en 65 µg PZP in microbolletjes), booster 65 µg met FIA 1 jaar	66% over 1 jaar na de laatste booster	Dart	109
Damhert	22	SpayVac (+FCA)	100 µg	100% over 3 jaar	Injectie	32
Witstaarthert	38	SpayVac (+AdjuVac)	200 µg	100% over 1 jaar	Injectie	44
Witstaarthert	31	SpayVac (+AdjuVac)	200 µg	100% over 2 jaar	Injectie	71
Wild paard	12	SpayVac (+AdjuVac)	400 µg	100% jr 1; 83% jr 2,3 en 4	Injectie	51

<sup>a</sup>Met het aantal dieren wordt bedoeld het aantal behandelde dieren.

<sup>b</sup>Het type contraceptiemiddel wordt vermeld en/of de geregistreerde naam (ATRIGEL, GonaCon, SpayVac). Bij immunocontraceptiemiddelen staat de naam van het gebruikte adjuvant tussen haakjes. (FCA = Freund's Complete Adjuvant, FIA = Freund's Incomplete Adjuvant)

<sup>c</sup>Indien er achter de dosering geen tijdsaanduiding staat betreft het een eenmalige toediening in het eerste jaar waarover de resultaten gemeten zijn.

<sup>d</sup>Het percentage onvruchtbaarheid is niet berekend ten opzichte van de vruchtbaarheid van onbehandelde dieren in eventuele controlegroepen, maar door 100% vruchtbaarheid (0% effectiviteit) aan te nemen als onbehandelde status. Bij vijf behandelde dieren wil een effectiviteit van 80% dus zeggen dat één van de dieren vruchtbaar was.