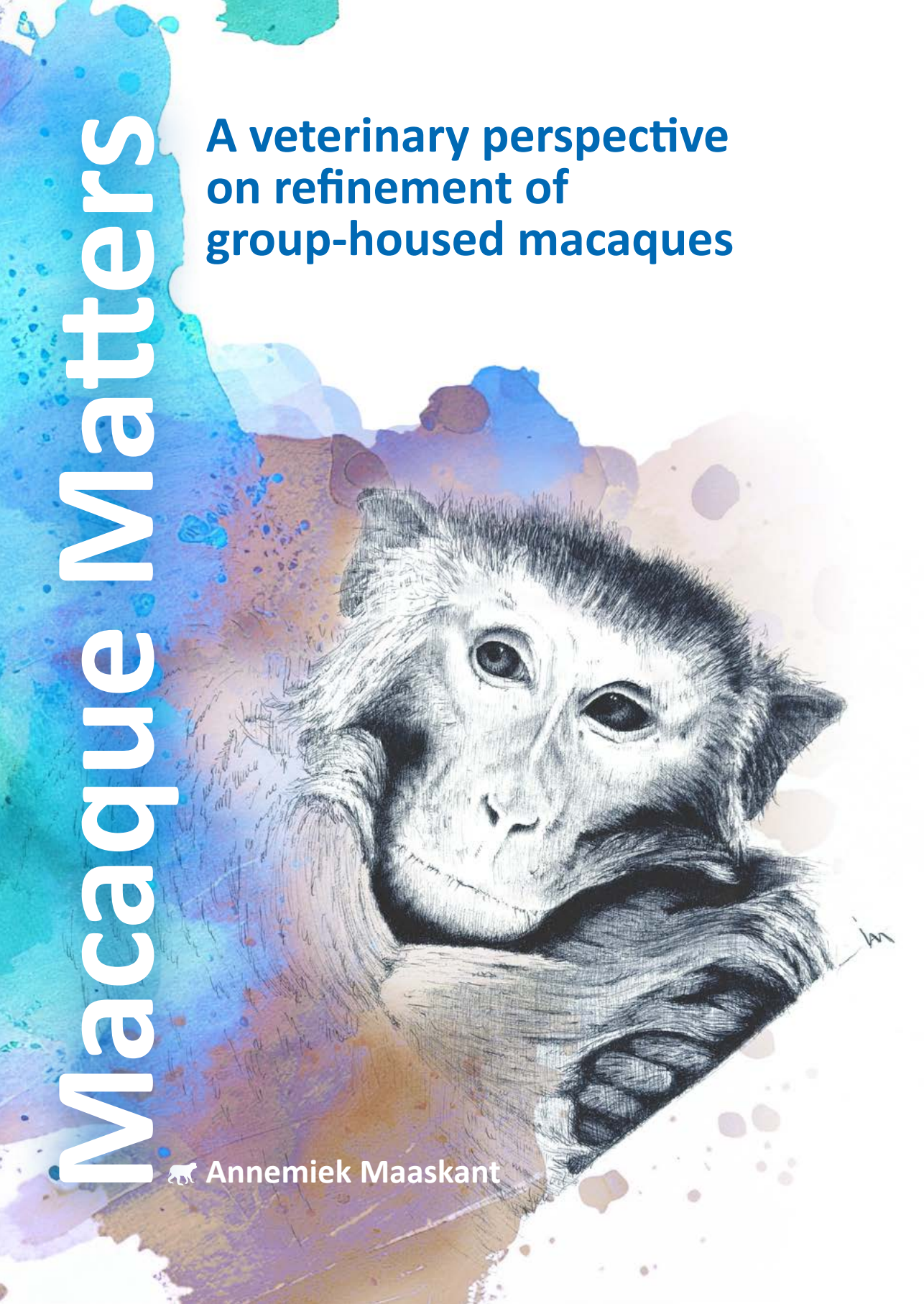
Macaque Matters

A veterinary perspective on refinement of group-housed macaques



Annemiek Maaskant

Macaque Matters

A veterinary perspective on refinement of group-housed macaques

Makaken Zaken

Een diergeneeskundige visie op verfijning bij makaken in groepshuisvesting

Samenvatting voor algemeen publiek

Annemiek Maaskant

Dedicated to macaques in biomedical institutions
—whose lives and welfare inspired this work.

Promotor
Prof. dr. J.A.M. Langermans

Copromotor
Dr. J. Bakker

De in deze samenvatting voor algemeen publiek beschreven onderzoeken zijn uitgevoerd bij Animal Science Department, met financiele steun van het Biomedical Primate Research Centre, Rijswijk, Nederland.

Het drukken van deze samenvatting is mogelijk gemaakt door UNO Life Science Solutions.

Illustrations: F. van Hassel
Lay-out: F. van Hassel
Cover: design: F. van Hassel, drawing: I. van Hierden, splash: adapted from TyliJura Pixabay
Printed by: Ridderprint BV

© Annemiek Maaskant, 2025. No parts of this thesis may be reproduced or transmitted, in any form, without permission in writing from the author.

Inhoud

Hoofdstuk 1: Introductie 5

Hoofdstuk 2: Luchtkwaliteit in de fokgebouwen van resus en cynomolgusmakaken 11

Hoofdstuk 3: Het effect van primatenvoer met verschillende samenstellingen op resusmakaken met chronische diarree. 17

Hoofdstuk 4: Darmbacteriën wijzen op mogelijke lactose-intolerantie bij resusmakaken met chronische diarree. 21

Hoofdstuk 5: Van poep tot data: AI-analyse van het microbioom van resusmakaken 25

Hoofdstuk 6: Van poep tot inzichten: AI voorspelt de darmgezondheid in resusmakaken. 31

Hoofdstuk 7: Evaluatie van langdurige anticonceptie met Implanon®-implantaten bij makaken. 37

Hoofdstuk 8: Van injectie tot darm: onderzoek naar de werking van ampicilline bij resusapen en de gevolgen voor hun darmflora 43

Appendices 47

1

Introductie

Annemiek Maaskant

Voorwoord

Normaal gesproken worden onze dieren vooral ingezet om de gezondheidszorg voor de mens te verbeteren. Dit werk daarentegen is vóór makaken en dóór makaken. Het verbeteren van hun zorg en welzijn staat hierin centraal. De titel 'Macaque Matters' is bewust dubbelzinnig: het verwijst enerzijds naar wat belangrijk is voor deze dieren zoals goede voeding, passende huisvesting en deskundige veterinaire zorg, en anderzijds de erkenning dat ze er voor ons ook toe doen. Niet alleen in wetenschappelijke context maar ook in onze dagelijkse motivatie om de best mogelijke zorg te geven. Daarom streven wij ernaar hun welzijn en zorg voortdurend te blijven verbeteren. It matters!

Dit proefschrift is een werk van toewijding en dierenliefde, niet alleen van mij, maar van het hele ASD-team! Zonder de inzet, kennis en doorzettingsvermogen van iedereen om mij heen was dit nooit gelukt. Samen hadden en hebben we één missie: het welzijn van onze apen verbeteren. Het verbeteren van het welzijn is een doorlopend proces; daar blijven we met volle overtuiging aan werken. En dat is zeker gelukt! Het resultaat: een proefschrift van maar liefst zeven hoofdstukken. Ik ben er ontzettend trots op en misschien nog wel trotser op onze afdeling ASD, dat we dit samen voor elkaar hebben gekregen.

Omdat ik niet iedereen wil vervelen met een 'droog' exemplaar vol vakjargon, heb ik een luchtigere versie van het proefschrift gemaakt. Hierin neem ik je mee door de kern van ons werk, op een manier die hopelijk net zo leuk is om te lezen als het voor mij was om het te maken.

Veel leesplezier!

Inleiding

Niet-humane primaten (NHP) zoals resus makaken (*Macaca mulatta*) en cynomolgus makaken (*Macaca fascicularis*) worden sinds decennia gebruikt in biomedisch onderzoek vanwege hun biologische en fysiologische overeenkomsten met de mens. Juist deze overeenkomsten zorgen ervoor dat ze op dit moment onmisbaar zijn als diermodellen om ernstige ziekten en therapeutische interventies te onderzoeken ten behoeve van de mens. Ondanks het belang van deze diermodellen, roept het ethische dilemma's op. Het gebruik van proefdieren is daarom strikt vastgelegd in de Nederlandse (Wet op de Dierproeven) en Europese (EU Directive 63/2010) regelgeving. In het kort, NHP mogen alleen in biomedisch onderzoek gebruikt worden als er geen passende alternatieven zijn, inclusief een andere diersoort. Daarnaast is men verplicht om bij dierproeven de 3V's toe te passen.

De 3V's zijn ethische richtlijnen die staan voor Vervanging, Vermindering en Verfijning van proefdiergebruik en hebben als doel om zowel de kwaliteit van het onderzoek, als het dierwelzijn te verbeteren. Ten eerste, dierproeven moeten zoveel mogelijk vervangen worden door andere proefdier-vrije manieren. Dit wordt sterk door de overheid gestimuleerd. Ten tweede, er moeten zo min mogelijk proefdieren gebruikt worden. Ten derde, verfijning van dierproeven heeft als doel om enerzijds het ongerief te verminderen en anderzijds het welzijn van de proefdieren te optimaliseren. Verfijning moet toegepast worden tijdens het hele leven van het dier en is dus niet beperkt tot een dierproef. Zolang er noodzaak is voor NHP-modellen, hebben overheden, universiteiten en onderzoeksinstelling de morele verplichting om het welzijn van de dieren die er nu zijn, continue te monitoren en waar mogelijk te verbeteren. Dat is een uitdaging omdat, in tegenstelling tot fondsen voor vervangen, fondsen voor verfijning van diermodellen nauwelijks tot niet beschikbaar zijn.

Hoewel makaken al decennialang veelvuldig zijn ingezet voor onderzoek ten behoeve van de mens, is er relatief weinig onderzoek verricht naar de gezondheid en welzijn van de dieren zelf. Er is daardoor nog onvoldoende kennis en inzicht in de behoefte van makaken om hun optimale gezondheid en welzijn te kunnen waarborgen. Daarom is het van belang om te blijven investeren in verfijning aspecten van huisvesting, verzorging en diergeneeskundige zorg van makaken.

De genoemde kennis-hiaten zorgen ook voor de nodige uitdagingen in het werk als NHP-dierenarts. Dit proefschrift heeft als doel om bij te dragen aan verfijning (3V's), specifiek aan onderwerpen waar men als NHP-dierenarts mee geconfronteerd wordt. Ten eerste, voor de verfijning van huisvesting is de luchtkwaliteit in de fok gebouwen onderzocht. Ten tweede, voor de verfijning van verzorging en gezondheid is gefocust op het verbeteren van het dieet voor de resus makaken. Daarbij is ook het microbioom betrokken om het effect van de dieet verandering beter te begrijpen en te onderbouwen. Ten derde, om de veterinaire zorg te verfijnen zijn er twee medicijnen onderzocht op effectiviteit bij makaken.

Een goede binnenluchtkwaliteit is heel belangrijk voor de gezondheid en het welzijn van dieren. De regels voor ventilatie in gebouwen waar makaken worden gehouden, zijn erg algemeen en niet echt gebaseerd op wetenschappelijk onderzoek. Er zijn wel richtlijnen voor de verblijven zelf, maar die geven maar weinig informatie over hoe de luchtkwaliteit precies moet zijn. Zo wordt aanbevolen dat de lucht 6 tot 15 keer per uur ververst wordt, maar daarbij wordt niet gekeken naar het type verblijf of hoeveel dieren er precies gehuisvest zijn. Daarom hebben we in **hoofdstuk 2** onderzocht hoe de luchtkwaliteit is in de verblijven van resus- en cynomolgusmakaken.

Diarree is een veel voorkomend probleem in NHP in gevangenschap, zo ook op het BPRC. In veel gevallen is er geen sprake van een infectieuze infectie en is de oorzaak onbekend. We spreken dan van chronische idiopathische diarree. Daarnaast is de oorzaak van diarree vaak multifactorieel. In **hoofdstuk 3** en **4** passen we op praktische wijze een dieet onderzoek toe. We hebben onderzocht of vijf verschillende commercieel verkrijgbare apen brokken een verbetering geven in de consistentie van de ontlasting. Het belangrijkste verschil tussen de geselecteerde brokken was de hoeveelheid vezels, lactose en bereidingswijze. We keken of er een relatie was tussen het dieet (brok), microbioom en diarree. Het darmmicrobioom is het geheel van micro-organismen, zoals bacteriën, virussen en schimmels, die in de darmen leven. Deze enorme en complexe gemeenschap helpt bij de vertering van voedsel, de productie van vitamines en het ondersteunen van het immuunsysteem. De samenstelling van het microbioom is voor ieder individu uniek en speelt een belangrijke rol in de spijsvertering, de weerstand en de algehele gezondheid.

Makaken zijn hele sociale dieren. Op ons instituut leven de meeste dieren in naturalistische familiegroepen: stabiele groepen met meerdere generaties. Daarin kunnen ze natuurlijk gedrag laten zien, zoals spelen, elkaar verzorgen, communiceren, sociale banden opbouwen en voortplanten. Binnen zulke groepen gelden duidelijke gedragsregels en een rangorde die zorgt voor rust en stabiliteit. Als er onrust ontstaat, kan dat leiden tot ruzies en verwondingen. Het behandelen van dieren in deze groepen is vaak lastig, omdat ingrepen door mensen stress veroorzaken, niet alleen bij het dier dat behandeld wordt, maar ook bij de rest van de groep.

Dat maakt dat diergeneeskundige behandeling in grote sociale groepen vaak een uitdaging vormt. Middelen die langere tijd werkzaam zijn hebben daarbij de voorkeur, omdat ze minder vaak hoeven te worden toegediend en zo het aantal behandelingen en de daarmee gepaard gaande stress verminderen. Tegelijkertijd is er, in tegenstelling tot bij huisdieren en landbouwhuisdieren, weinig wetenschappelijk bewijs over het gebruik en de juiste dosering van medicijnen bij makaken. In **hoofdstuk 7** en **8** onderzochten we daarom twee soorten medicijnen (contraceptie en een antibioticum) met een verlengde werkingsduur om de gezondheid en het welzijn van de dieren te verbeteren.

Betrouwbare anticonceptiemethoden zijn cruciaal voor populatiebeheer, zowel bij wilde en semi-wilde populaties als bij makaken in gevangenschap. Deze methoden helpen de groepsdynamiek en het welzijn van elk dier te waarborgen, doordat ze populaties reguleren en tegelijkertijd de individuele diergeneeskundige zorg

ondersteunen. Om de dieren zo min mogelijk te belasten en de groepen zo min mogelijk te verstoren, is een ideale methode langwerkend, veilig, weinig ingrijpend en omkeerbaar. Helaas zijn niet-invasieve manieren, zoals het verstrekken van medicatie via voedsel, vaak onbetrouwbaar, omdat makaken erom bekend staan medicijnhoudend voedsel te weigeren. Aan de andere kant zijn operaties zoals sterilisatie en castratie wel betrouwbaar, maar permanent en ingrijpend.

In **hoofdstuk 7** onderzochten we of minimaal ingrijpende methoden, zoals hormoonimplantaten onder de huid, ook in makaken effectief, veilig, langdurend en reversibel zijn.

Veel antibiotica zijn geregistreerd voor gebruik bij huisdieren of mensen, maar niet specifiek voor makaken. Dit betekent dat er weinig wetenschappelijk bewijs is over hoe goed deze medicijnen werken en welke dosering het beste is voor makaken. Doseringen worden nu vaak afgeleid van andere diersoorten, dit kan leiden tot te veel of juist te weinig medicatie. Daarom is het belangrijk om beter bewijs te hebben voor de werking en juiste dosering van antibiotica. Antibiotica zijn onmisbaar bij de behandeling van zieke dieren, maar het is belangrijk ze verantwoord en selectief te gebruiken om resistentieontwikkeling te voorkomen. Daarom onderzochten we in **hoofdstuk 8** de farmacologische eigenschappen van een langwerkend antibioticum in makaken.

De beschreven onderzoeken zijn uitgevoerd bij het Biomedical Primate Research Centre (BPRC, Rijswijk, Nederland). Het BPRC huisvest ongeveer 1000 NHP in fok kolonies en experimentele huisvesting. De dieren worden gebruikt in biomedisch onderzoek naar onder andere malaria, COVID, tuberculose en veroudering gerelateerde aandoeningen. Dierenverzorging en dierwelzijn vormen een belangrijk aandachtspunt binnen het BPRC, daarom wordt er continu gewerkt aan het verbeteren van de huisvesting, verzorging en de medische zorg voor makaken.

2

Luchtkwaliteit in de fokgebouwen van resus en cynomolgusmakaken

Annemiek Maaskant, Isabel Janssen, Inge M. Wouters, Frank J.C.M. van Eerdenburg, Edmond J. Remarque, Jan A.M. Langermans, Jaco Bakker

Animals. 2022;12(14):1750

Doel van het onderzoek

We wilden weten hoe de luchtkwaliteit is in de binnen verblijven van de fokgebouwen, waar resus- en cynomolgusmakaken in grote familiegroepen gehuisvest zijn. Luchtkwaliteit speelt een belangrijke rol in het welzijn en de gezondheid. Daarom wilde we ook weten hoe de blootstelling was aan dierverzorgers gedurende hun werkzaamheden.

Hoe werd dat onderzocht?

In de verblijven werden temperatuur, luchtvochtigheid, stofdeeltjes (inhaleerbaar stof), endotoxinen (bacteriële afbraakproducten), ammoniak, schimmel en luchtstromen gemeten (Fig. 1). Daarnaast werd bekeken aan hoeveel inhaleerbaar stof en endotoxinen verzorgers daadwerkelijk werden blootgesteld tijdens hun werk. Bij de apen werd het aantal keer niezen bijgehouden als mogelijke indicator van suboptimale luchtkwaliteit. Ook werden rooktesten gebruikt om te zien hoe de lucht door de verblijven stroomde (Fig. 2.)

Belangrijkste resultaten

Voor makaken zijn geen specifieke drempelwaarden vastgesteld voor blootstelling aan stof, endotoxine en ammonia. Wel bleven de gemeten waarden binnen de gestelde humane grenzen. De temperatuur en luchtvochtigheid waren binnen acceptabele grenzen voor de dieren. Toch werden bij de verzorgers veel hogere waarden gevonden voor stof en endotoxinen (Tabel 1). Uit de rooktesten bleek dat de ventilatie in sommige delen van de verblijven suboptimaal was (Fig. 3 en 4). De luchtstroom werd op sommige plekken verstoord door o.a. het hekwerk (Fig. 5). Er werd geen duidelijke relatie gevonden tussen de gemeten luchtwaarden en het aantal keer niezen bij de apen.

Tabel 1 Gemeten persoonlijke blootstelling van verzorgers aan stof en endotoxinen die ze kunnen inademen tijdens twee gewone werkdagen. De tijd die de verzorgers besteden aan taken binnen en buiten de dierenverblijven wordt weergegeven als percentage (%) van de totale meettijd per werkdag. Daarnaast worden de gemeten gemiddelde concentraties van stof en endotoxinen in het dierverblijf weergegeven.

	Resus gebouw		**Cynomolgus gebouw**	
	Dag 1	**Dag 2**	**Dag 1**	**Dag 2**
Inhaleerbaar stof (mg/m^3)	3.3	1.8	2.3	9.3
Endotoxine (EU/m^3)	390.7	968.6	164.7	231.7
Totale gemeten tijd (min)	357	362	389	393
Tijd in dierkamer (%)	66%	52%	45%	39%
Tijd buiten dierkamer (%)	34%	48%	55%	61%
Gemiddelde stofgehalte dierverblijf (mg/m^3)	0.069		0.067	
Gemiddelde endotoxine (EU/m^3) dierverblijf	26.1		6.61	

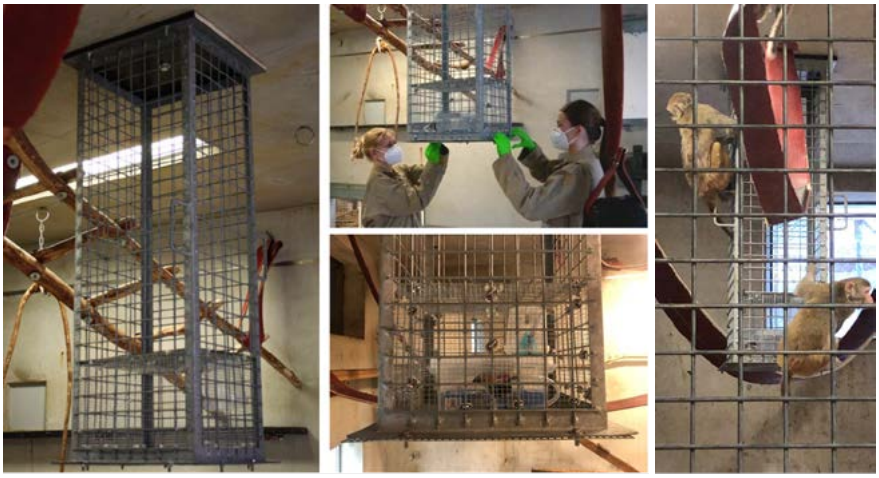


Fig. 1 Kooiconstructie die aan het plafond hangt van de dierverblijven (links). De meetapparatuur werd onderin de kooiconstructie geplaatst en is afgeschermd van de apen met fijnmazig gaas en plastic bakjes (midden). De apen konden vrij bewegen in hun verblijf en laten hier zien waarom de bescherming van de apparatuur noodzakelijk was (rechts).

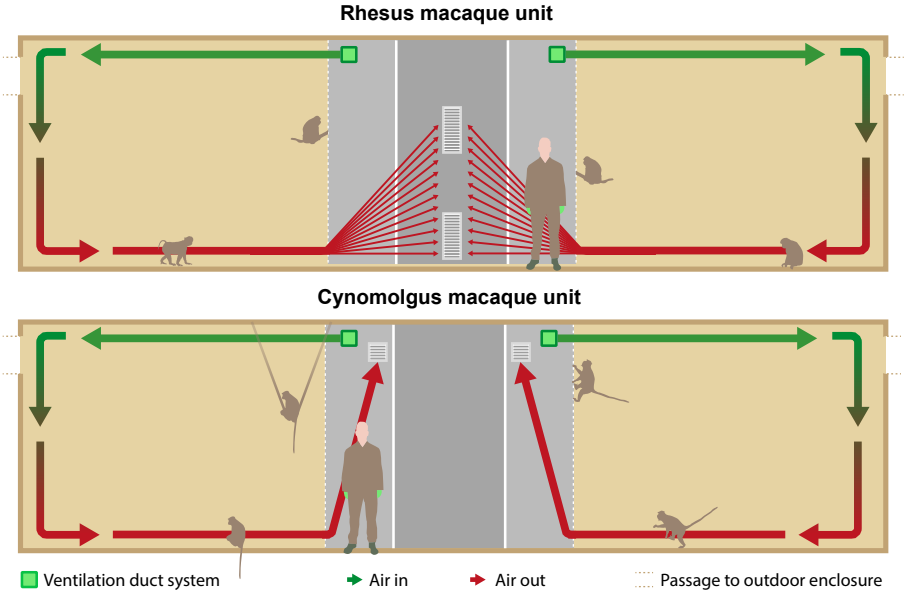


Fig. 2 Schematische doorsnede van de verblijven met de verwachte luchtstroming. In het resus gebouw zaten de afzuigingen in het midden van de muur tegenover de kooien, onder het plafond en boven de vloer. In het cynomolgus gebouw zaten de afzuigingen aan de linker- en rechterkant van elke ruimte, ook net onder het plafond en boven de vloer, tegenover de kooien. De groene pijlen geven de stroomrichting van de vers ingeblazen lucht weer en de rode pijlen de afzuigingsrichting.

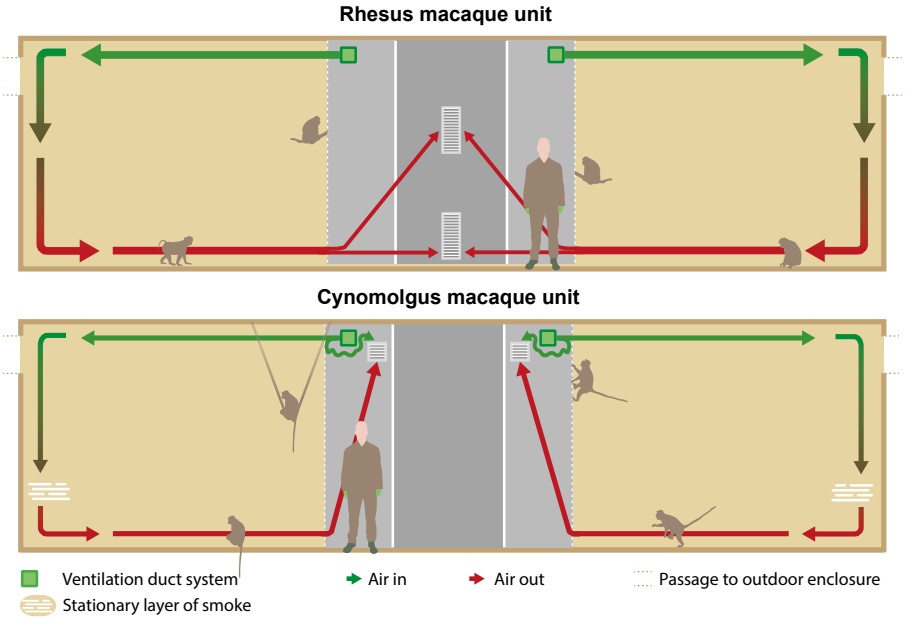


Fig. 3 Schematische doorsnede van de verblijven waarbij de huidige luchtstroom is zichtbaar gemaakt met een rooktest.

Fig. 4 Links een foto van het aansteken van een rookpatroon vlak voor de luchtinlaat in het resus gebouw. De rook wordt door het gaasraam in het verblijf geblazen. Rechts een foto van het verblijf 6 minuten na het inblazen van de rook. De rook is grotendeels weer afgezogen.

Fig. 5 Links een foto van het aansteken van een rookpatroon vlak voor de luchtinlaat in het cynomolgus gebouw. De rook wordt vooral tegengehouden doordat het tegen het raamwerk van de kooi botst. Rechts een foto van de rooklaag die binnen in het verblijf is ontstaan en blijft hangen.

Wat betekent dit?

De luchtkwaliteit in de dierverblijven was over het algemeen goed voor de dieren, maar de verzorgers werden blootgesteld aan hogere stof en endotoxinen concentraties. De aard van de werkzaamheden (vegen, scheppen) lijken een accumulerend effect te hebben op de blootstelling. Het dragen van passende persoonlijke beschermingsmiddelen (PBM) zoals de FFP2 mondmaskers tijdens de werkzaamheden zijn essentieel voor voldoende bescherming tegen te hoge blootstelling. De ventilatie kan beter worden ingericht om in alle delen van de verblijven een goede luchtverversing te realiseren.

Conclusie

De lucht in de groepsverblijven van onze fokgebouwen is geschikt voor de apen, maar kan ongezond zijn voor mensen die er werken door de hogere blootstelling aan stof en bacteriële deeltjes als men geen PBM gebruikt. Er is geen relatie tussen het niezen van de dieren en de luchtkwaliteit.

Het effect van primatenvoer met verschillende samenstellingen op resusmakaken met chronische diarree

Annemiek Maaskant, Niels R. Blees, Antoine Smits, Ronald J. Corbee, Jaco Bakker, Jan A.M. Langermans[b], Edmond J. Remarque[b]

[b] Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen en delen daarom de laatste auteurspositie

Lab Anim Res. 2025;41(1):15

Doel van het onderzoek

Resusmakaken in gevangenschap hebben vaak last van chronische diarree. Soms is behandeling nodig en in ernstige gevallen kan het leiden tot uitdroging of zelfs overlijden. Omdat voeding een belangrijke rol kan spelen bij het ontstaan en verloop van diarree, werd in dit onderzoek gekeken naar de effecten van verschillende apen brokken op chronische, niet-besmettelijke diarree.

Hoe werd dat onderzocht?

In totaal werden veertien makaken geselecteerd, waarvan negen met chronische diarree en vier gezonde dieren als controlegroep. De dieren met diarree hadden een historie dat ze geen blijvende effecten ondervonden van reguliere diergeneeskundige behandelingen. Er werden vijf verschillende typen brokken getest: de standaardvoeding (Ssniff), een geëxtrudeerde variant (Altromin), een hybride variant (Hybrid) en twee lactosevrije varianten met een laag respectievelijk hoog vezelgehalte (Vega en Kasper). Elk dieet werd drie maanden gegeven, met tussendoor een periode waarin de dieren teruggingen naar de standaardvoeding. Voor ieder duo werd de ontlasting dagelijks beoordeeld met de Waltham-score, waarbij een gemiddelde score boven de 3,5 als diarree werd beschouwd. Iedere twee weken kreeg een dier van het duo blauwe taartenkleurstof of glitters om individueel de ontlasting te scoren. Daarnaast werd het aantal ontlastingen per observatie moment geregistreerd.

Belangrijkste resultaten

De hoeveelheid voedingstoffen, vitaminen en mineralen in de brokken viel bij alle varianten binnen de gestelde minimale hoeveelheden. Het belangrijkste verschil in nutriënten was de hoeveelheid vezels en de aan of afwezigheid van lactose bevattende ingrediënten.

Bij de dieren met diarree zorgden zowel het lactosevrije dieet met weinig vezels als het lactosevrije dieet met veel vezels voor een duidelijke verbetering van de ontlastingsconsistentie (Fig 6). Ook bij de controledieren gaf het vezelrijke, lactosevrije dieet vastere ontlasting. Het vezelrijke dieet zorgde er wel voor dat de dieren vaker ontlasting hadden, terwijl diëten met minder vezels juist leidden tot minder frequente ontlasting per observatie moment.

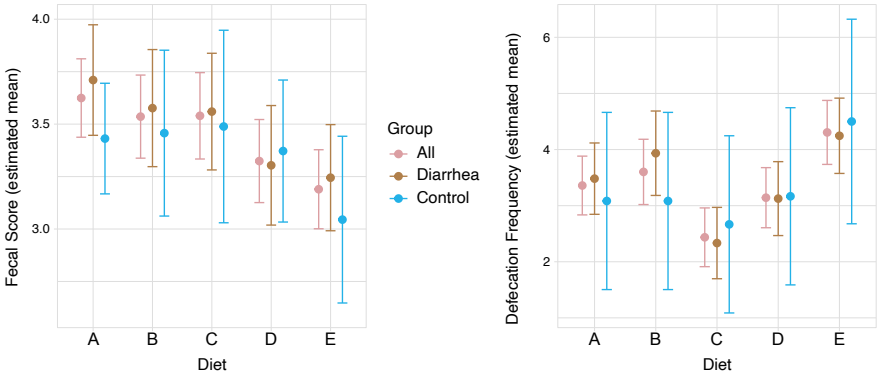


Fig. 6 Links, de resultaten van een statistische analyse die de gemiddelde consistentie van de ontlasting laten zien, met balkjes die de betrouwbaarheid van deze gemiddelden aangeven. Dit is weergegeven voor alle dieren samen (beige) en apart voor de groep met diarree (bruin) en de controlegroep zonder diarree (blauw). In de diarreegroep zorgden zowel het D- als het E-dieet voor een verbetering van de ontlasting. In de controlegroep verbeterde vooral het E-dieet de ontlastingsconsistentie. Rechts, de resultaten van dezelfde analyse die het gemiddelde aantal keren dat de dieren moesten poepen laat zien. Ook hier geven de balkjes aan hoe betrouwbaar deze gemiddelden zijn, voor alle dieren samen (beige) en apart voor de diarree- (bruin) en controlegroep (blauw). A = Ssniff, B =Altromin, C = Hybrid, D = Vega, E = Kasper

Wat betekent dit?

De resultaten suggereren dat lactose bijdraagt aan diarree bij resusmakaken. Het verminderen van lactose in de voeding helpt om de ontlasting steviger te maken. Het verhogen van het vezelgehalte stimuleert de darmbeweging en verhoogt de ontlastingsfrequentie. De combinatie van weinig lactose en veel vezels gaf de beste algehele resultaten.

Conclusie

Een lactosevrij, vezelrijk dieet helpt makaken met chronische diarree om stevigere ontlasting te produceren en zorgt voor een iets hogere, maar gezonde, ontlastingsfrequentie. Zulke aanpassingen kunnen bijdragen aan een beter welzijn van makaken in gevangenschap.

4

Darmbacteriën wijzen op mogelijke lactose-intolerantie bij resusmakaken met chronische diarree

Annemiek Maaskant [a], Bas Voermans [a], Evgeni Levin, Marcus C. de Goffau, Nicole Plomp, Frank Schuren, Edmond J. Remarque, Antoine Smits, Jan A.M. Langermans, Jaco Bakker [b] , Roy C. Montijn [b]

[a] Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen en delen daarom de eerste auteurspositie.
[b] Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen en delen daarom de laatste auteurspositie.

Anim Microbiome. 2024;6(1):53

Doel van het onderzoek

Dit onderzoek richtte zich op resusmakaken die last hebben van terugkerende, chronische diarree. We wilden onderzoeken of er een verband bestaat tussen de samenstelling van de darmflora (microbioom), dieet (brokken), en diarree. Het uiteindelijke doel was om beter te begrijpen wat deze diarree veroorzaakt zodat welzijn van de apen verbeterd kan worden.

Hoe werd dat onderzocht?

Gedurende twee jaar werden regelmatig ontlastingsmonsters verzameld van makaken met diarree en van gezonde controledieren. De samenstelling van de darmflora werd geanalyseerd met behulp van geavanceerde DNA-technieken. Tegelijkertijd werd gekeken welke brokken de dieren kregen en of de consistentie van de ontlasting veranderde. Door deze data te combineren konden we verbanden leggen tussen microbioom, dieet en diarree.

Belangrijkste resultaten

Opmerkelijk was dat het gebruik van lactosevrije brokken duidelijk samenhing met een afname van diarree bij deze dieren (Fig 7). Microbioomanalyse liet zien dat makaken met chronische diarree een verhoogd aantal melkzuurproducerende bacteriën in hun darmen hadden, zoals soorten uit de groep *Lactobacillus*. Daarnaast kwamen bacteriën voor die melkzuur en succinaat fermenteren. Deze veranderingen in de darm trekken water aan, hierdoor kan diarree ontstaan (Fig 8). Dit wijst erop dat lactose-intolerantie een factor kan zijn bij het ontstaan van diarree bij resusmakaken.

Wat betekent dit?

De studie laat zien dat lactose-intolerantie waarschijnlijk een probleem is bij de onderzochte resusmakaken met chronische diarree. Door het dieet aan te passen en lactose te vermijden, kan de darmflora in een gezondere balans komen en kan de frequentie en ernst van diarree verminderen.

Conclusie

Resusmakaken met chronische diarree, lijken niet goed tegen lactose in hun voeding te kunnen. Door hun dieet aan te passen en lactose te vermijden, kunnen ze gezondere darmen krijgen en minder last van diarree. Dit helpt hun gezondheid en welzijn te verbeteren.

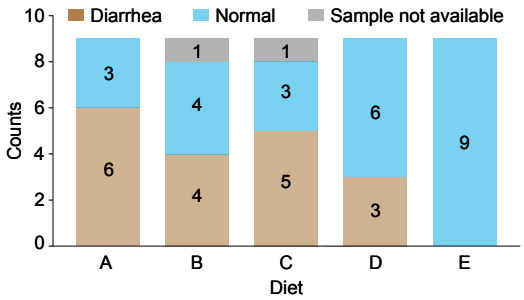


Fig. 7 Het aantal dieren dat per dieet werd beoordeeld als normaal (score ≥ 3,5) of met diarree (score ≤ 3,6) op basis van de gemiddelde Waltham-score. Dieet A = Ssniff, B =Altromin, C = Hybrid, D = Vega, E = Kasper

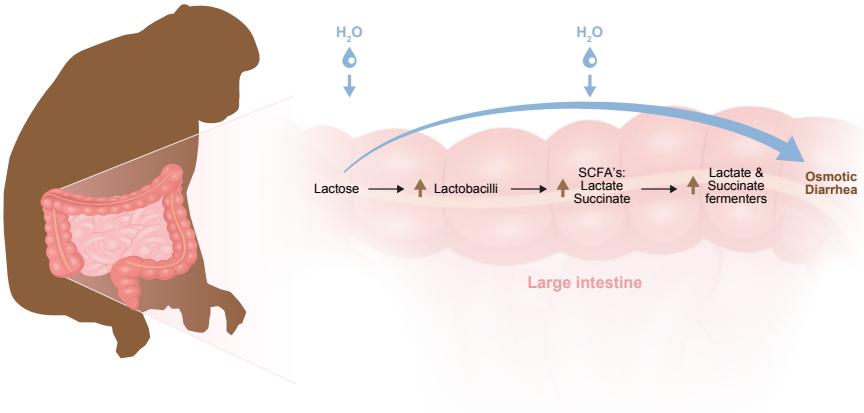


Fig. 8 Illustratie van het vermoedelijke verband tussen lactose-intolerantie en het gevonden microbioomprofiel bij makaken met diarree. Door het slecht opnemen van lactose in de dunne darm blijft er water achter, waarna de lactose terechtkomt in de dikke darm waar het vooral wordt gefermenteerd door lactobacillen. Hierdoor neemt het aantal lactobacillen toe doordat ze extra voedsel (lactose) hebben. Deze lactobacillen zetten de lactose om in korte-keten vetzuren (SCFA's), wat leidt tot hogere concentraties lactaat en succinaat in de darm. De verhoogde hoeveelheden lactaat en succinaat zorgen ervoor dat andere bacteriën die deze stoffen kunnen gebruiken, zich sterk vermenigvuldigen. Door de hogere concentratie SCFA's in de darm wordt water aangetrokken naar de darmholte door een osmotisch effect. Dit, samen met het eerder vastgehouden water in de dunne darm, veroorzaakt een ophoping van water in de darm en daardoor diarree.

5

Van poep tot data: AI-analyse van het microbioom van resusmakaken

Donghyeok Lee*, Annemiek Maaskant*, Huy Ngo, Roy C. Montijn, Jaco Bakker, Jan A.M. Langermans, Evgeni Levin

* Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen en delen daarom de eerste auteurspositie

iScience. 2024;27(12):111310

Doel van het onderzoek

Het doel van dit onderzoek was om een snelle, betaalbare en betrouwbare methode te ontwikkelen voor het analyseren van de darmflora (microbioom) van resusmakaken. Dit werd bereikt door kunstmatige intelligentie (AI) te gebruiken om digitale beelden van ontlasting te koppelen aan het microbioom (Fig 9). Deze innovatieve aanpak kan bijdragen aan een beter begrip van de gezondheid van de apen en mogelijk ook van andere diersoorten.

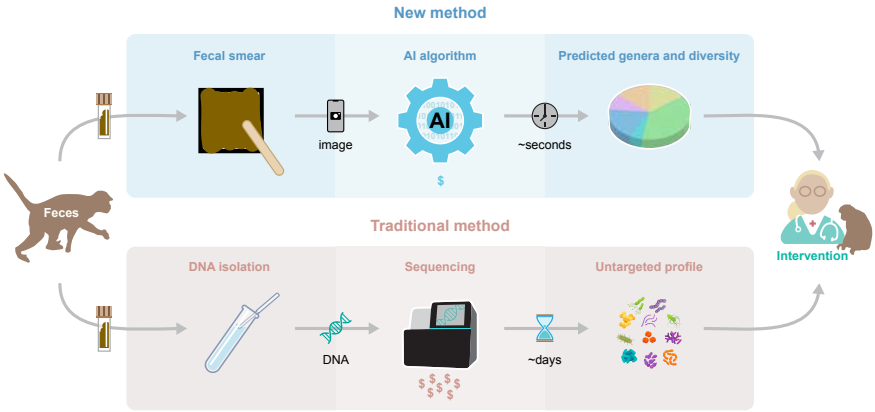


Fig. 9 Algemeen overzicht van het proces van de nieuwe experimentele AI/ML-methode vergeleken met de traditionele manier van het onderzoeken van het microbioom met sequentietechnieken. Bij de experimentele methode wordt ontlasting uitgesmeerd op een papier, daarna wordt er een foto gemaakt die in het AI-programma wordt geladen. Binnen enkele seconden geeft het programma gerichte resultaten, zoals de diversiteit en bepaalde bacteriegroepen. Deze gerichte resultaten zijn makkelijker te gebruiken door dierenartsen om diagnoses te stellen, interventies te plannen of behandelingen te starten bij dieren met maag- en darmproblemen.

Hoe werd dat onderzocht?

We verzamelden digitale beelden van ontlastingsmonsters van resusmakaken (Fig. 10) en koppelden deze aan gegevens van het microbioom en de consistentie van de ontlasting. De gebruikte ontlasting voor deze smeertjes, inclusief het bijbehorende microbioom, kwam uit ons eerdere onderzoek waarin we het effect van verschillende diëten op de darmgezondheid evalueerden. Vervolgens ontwikkelden we op maat gemaakte AI-algoritmen die in staat waren om belangrijke microbiële kenmerken, zoals de diversiteit van het microbioom en de aanwezigheid van specifieke bacteriële genera, te voorspellen op basis van de digitale beelden. Deze algoritmen werden getraind met behulp van bestaande gegevens van het microbioom om nauwkeurige voorspellingen te kunnen doen.

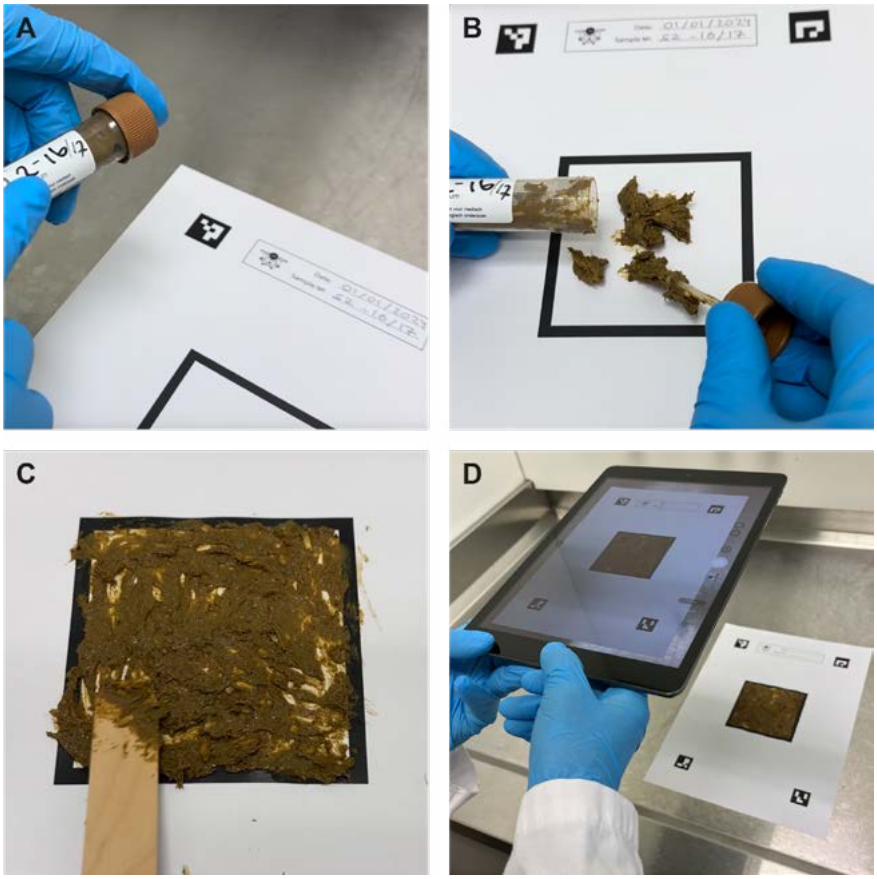


Fig. 10 Techniek voor het maken van hoogwaardige digitale beelden van ontlastingsuitstrijkjes. (A) Een papiersjabloon met een gedrukt vierkant en herkenningspunten op een vlakke ondergrond, met het monster-ID bovenaan geschreven. (B) Ontlasting wordt binnen de grenzen van het vierkant aangebracht. (C) De ontlasting wordt zo gelijkmatig mogelijk uitgesmeerd met een spatel. (D) Er wordt een foto gemaakt van het uitstrijkje, inclusief de herkenningspunten en het monster-ID.

Belangrijkste resultaten

De resultaten toonden aan dat de AI-algoritmen succesvol in staat waren om belangrijke microbiële kenmerken te voorspellen, zoals de diversiteit van de microbioom (Shannon-index), de aanwezigheid of afwezigheid van enkele specifieke bacteriële genera en de consistentie van de ontlasting (Waltham-score) (Fig. 11). Deze bevindingen suggereren dat het mogelijk is om de darmflora van resusmakaken effectief te analyseren met behulp van digitale beelden en AI, wat een snellere en goedkopere methode biedt dan traditionele technieken.

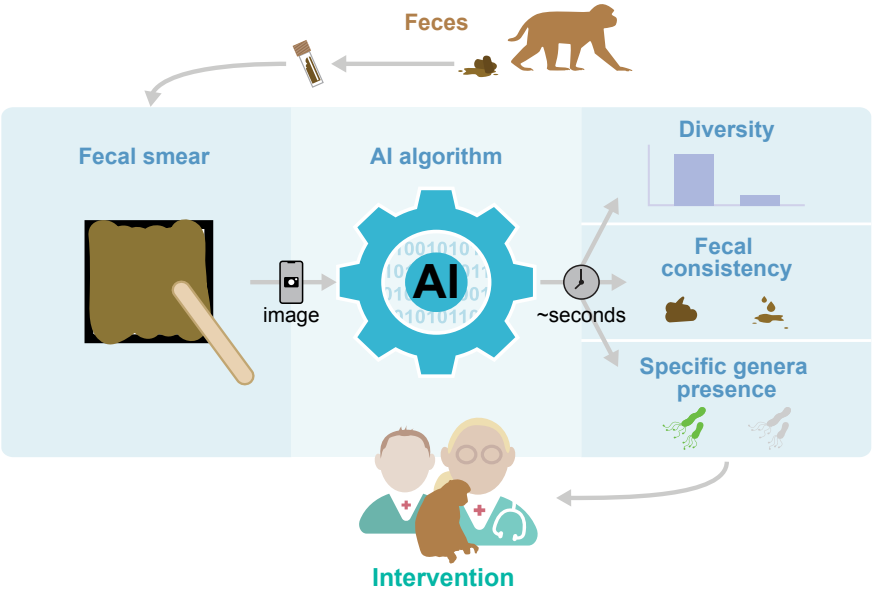


Fig. 11 Illustratie van de analyse en resultaten: Ontlasting (feces) wordt verzameld van een dier en uitgesmeerd op een papieren sjabloon, waar vervolgens een foto van wordt gemaakt. Met behulp van getrainde AI-algoritmes wordt deze foto omgezet in data. Het algoritme voorspelt de diversiteit van het microbioom (hoog versus laag), de Waltham-score (diarree versus geen diarree) en de aanwezigheid van specifieke bacteriële genera. Samen geven deze gegevens een inzicht in de darmgezondheid van het dier, waardoor bijvoorbeeld de dierenarts gericht een behandeling kan instellen.

Wat betekent dit?

Deze nieuwe methode kan de manier waarop de gezondheid van apen wordt gemonitord aanzienlijk verbeteren. Door snel en betrouwbaar de samenstelling van de darmflora te analyseren, kunnen dierenartsen en onderzoekers beter begrijpen hoe de gezondheid van de apen wordt beïnvloed door factoren zoals dieet, omgeving en ziekte. Dit kan leiden tot betere zorg en welzijn voor de dieren.

Conclusie

We hebben een veelbelovende nieuwe methode ontwikkeld om aan de hand van foto’s van ontlasting een beeld te krijgen van de bacteriën in de darmen van apen. Hoewel deze aanpak een interessante eerste aanwijzing biedt voor de gezondheid van de dieren en dierenartsen kan helpen bij de verzorging, is er nog verder onderzoek nodig om de methode te verfijnen en betrouwbaar toe te passen.

6

Van poep tot inzichten: AI voorspelt de darmgezondheid in resusmakaken

Annemiek Maaskant*, Donghyeok Lee*, Huy Ngo, Roy C. Montijn, Jaco Bakker, Jan A.M. Langermans, Evgeni Levin

* Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen en delen daarom de eerste auteurspositie

Anim Microbiome. 2025;7(1):39

Doel van het onderzoek

Dit onderzoek bouwt voort op het vorige hoofdstuk waarin we een snelle en betaalbare methode ontwikkelden om microbiële biomarkers te identificeren via foto's van ontlasting smeertjes. Het huidige onderzoek richtte zich op het verder ontwikkelen van het model om belangrijke bacteriën in de darmen van resusmakaken te identificeren. Specifiek werd gekeken naar bacteriën die butyraat produceren, een type vetzuur dat belangrijk is voor de darmgezondheid. Traditionele methoden voor het analyseren van de darmflora zijn vaak duur en tijdrovend, waardoor er behoefte is aan efficiëntere technieken.

Hoe werd dat onderzocht?

We gebruikten kunstmatige intelligentie (AI) om digitale afbeeldingen van ontlastingsmonsters te analyseren. Deze afbeeldingen werden gecombineerd met bijbehorende microbioom gegevens. Door deep learning (DL) en machine learning (ML) algoritmen te trainen, konden we voorspellen welke bacteriën aanwezig waren en of ze butyraat produceerden (Fig. 12).

Daarnaast werd gekeken naar de invloed van factoren zoals de hoeveelheid ontlasting en de manier van uitstrijken (Fig. 13) op de nauwkeurigheid van de voorspellingen.

Belangrijkste resultaten

De AI-modellen slaagden erin om 16 individuele bacteriegroepen te voorspellen met een hoge nauwkeurigheid. Voor de groep van butyraat-producerende bacteriën was de nauwkeurigheid 75%, en voor een gemengde groep van fermenterende bacteriën en korte-keten vetzuur-producerende bacteriën was dit 81% (Fig. 14). De modellen bleken robuust tegen verstoringen zoals willekeurige ruis in de afbeeldingen en variaties in de hoeveelheid ontlasting die werd gebruikt..

Wat betekent dit?

Deze nieuwe methode biedt een snelle en kosteneffectieve manier om de samenstelling van de darmflora te analyseren, specifiek gericht op groepen bacteriën die butyraat produceren. Dit is belangrijk omdat butyraat een rol speelt in de gezondheid van de darmwand en het immuunsysteem. De techniek kan bijdragen aan een beter begrip van de darmgezondheid bij dieren, wat belangrijk is voor hun welzijn en voor het verbeteren van veterinaire zorg.

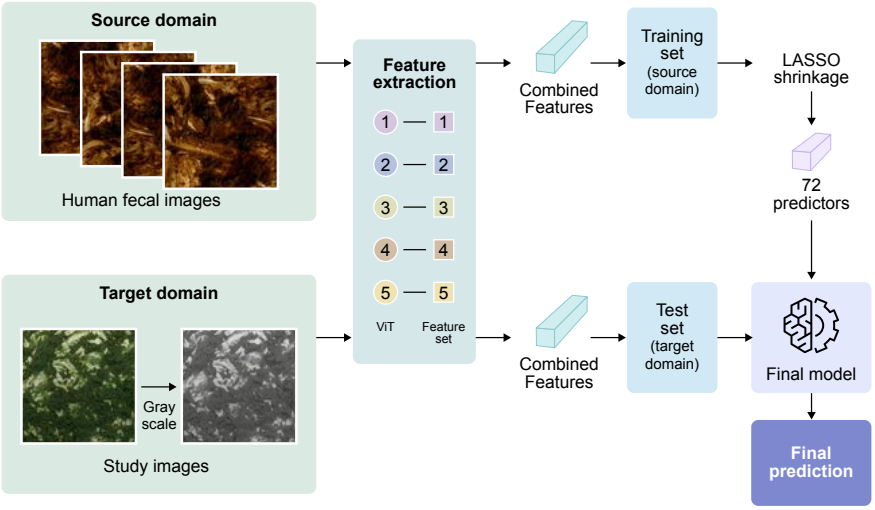


Fig. 12 Procesoverzicht van de stappen voor voorbewerking, modeltraining en evaluatie. Bij de voorbewerking werden de onderzoeksbeelden omgezet naar grijswaarden en daarna omgezet in kenmerken (features). Deze kenmerken werden verkregen met behulp van vijf verschillende vooraf getrainde Vision Transformer (ViT)-modellen. Vervolgens werd een least absolute shrinkage and selection operator (LASSO)-regressie toegepast, samen met extra filtering op basis van variantie voor de selectie van kenmerken. Dit resulteerde in een uiteindelijke set van 72 voorspellers.

Fig. 13 De richting waarin het uitstrijkje wordt gemaakt, beïnvloedt de algemene vorm van het beeld van het uitstrijkje. Maar dit heeft geen effect op het voorspellende vermogen van het model. Het maakt dus niet uit hoe de ontlasting op het sjabloon gesmeerd wordt.

Conclusie

We hebben een nieuwe manier gevonden om snel en goedkoop te bepalen welke bacteriën er in de darmen van apen zitten, door alleen naar foto's van hun ontlasting te kijken. Dit helpt dierenartsen om beter te begrijpen hoe gezond de apen zijn en hoe ze hen beter kunnen verzorgen.

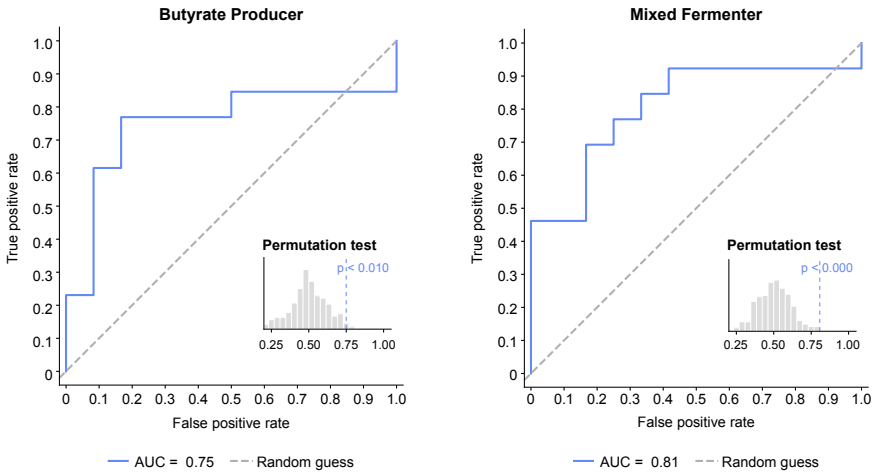


Fig. 14 Het gebied onder de ROC-curve (receiver operating characteristic) met een permutatietest en de bijbehorende p-waarde voor de groep butyraat-producerende bacteriën (links) en de gemengde groep van fermenterende bacteriën (rechts). De stippellijn geeft de score weer die je zou verwachten bij puur toeval, vergelijkbaar met het opgooien van een muntje.

7

Evaluatie van langdurige anticonceptie met Implanon®-implantaten bij makaken

Annemiek Maaskant, Kimberly K. Scarsi, Lisette Meijer, Sandra Roubos, Annet L. Louwerse, Edmond J. Remarque, Jan A.M. Langermans, Marieke A. Stammes, Jaco Bakker

Front Vet Sci. 2024;10:13198

Doel van het onderzoek

In groepen makaken kan het belangrijk om zwangerschappen te voorkomen, om zo bijvoorbeeld de groepsgrootte beheersbaar te houden. Een goede anticonceptiemethode werkt lang, is veilig, en kan weer worden teruggedraaid als dat nodig is. Dit onderzoek keek naar het gebruik van een onderhuids hormoonimplantaat met etonogestrel (Implanon®) bij vrouwelijke resus- en cynomolgusmakaken (Fig. 15).

Hoe werd dat onderzocht?

We verzamelden de gegevens van alle dieren die bij ons ooit een Implanon®-implantaat onder de huid kregen. In dit retrospectieve onderzoek bekeken we achteraf de informatie die over meerdere jaren standaard in onze database was vastgelegd. We bekeken hoe goed het middel zwangerschappen voorkwam, hoe lang het werkzaam bleef, of de dieren na verwijdering weer vruchtbaar werden, en of er bijwerkingen waren. We gebruikten een dosis van een kwart tot een derde van de dosis zoals die bij mensen wordt gegeven.

Hoe werkt implanon?

Het Implanon®-implantaat geeft het synthetische hormoon etonogestrel af in de bloedbaan. Dit hormoon voorkomt, via verschillende terugkoppelingsmechanismen, dat er een eisprong plaatsvindt. Daarnaast maakt het het slijmvlies van de baarmoeder dunner, waardoor een bevruchte eicel zich moeilijk kan innestelen. Tot slot zorgt het ervoor dat het slijm in de baarmoedermond dikker wordt, waardoor zaadcellen moeilijker binnenkomen. Zo werkt het implantaat dus op drie manieren om een zwangerschap te voorkomen (Fig. 16).

Belangrijkste resultaten

De resultaten (Tabel 2) lieten zien dat het implantaat zeer betrouwbaar was: meer dan 99% van de dieren bleef vrij van ongewenste zwangerschappen, zelfs wanneer het implantaat langer dan de aanbevolen drie jaar bleef zitten, soms tot wel vijf jaar. Na verwijdering van het implantaat herstelde de vruchtbaarheid snel en kregen de meeste dieren weer gezonde jongen. Er werden geen noemenswaardige effecten gevonden op bloedwaarden, de baarmoeder grootte of slijmvlies dikte. Bovendien bleven de hormoonspiegels in het bloed ruim boven de grens waarbij het middel betrouwbaar werkt (Fig. 17). Zowel de dosis van een kwart en een derde dosis waren effectief.

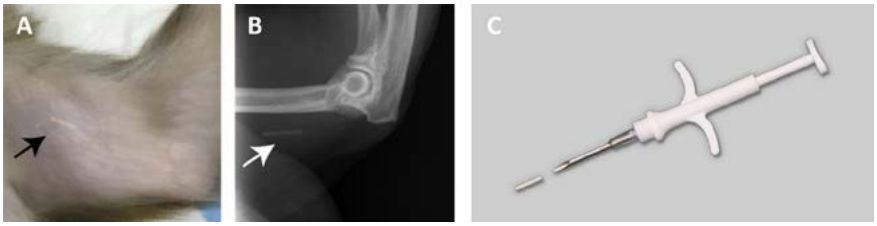
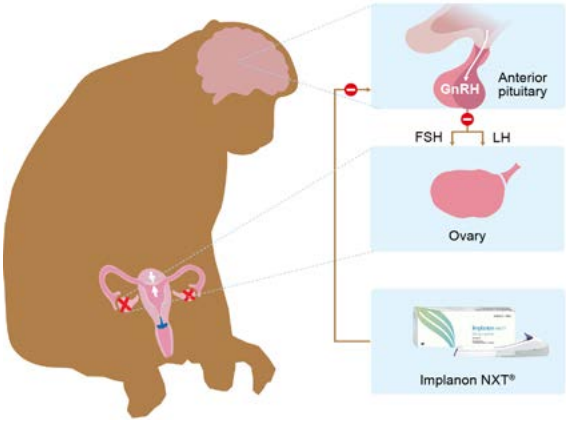


Fig. 15 (A) Foto van het onderhuids geplaatste implantaat (pijl), dat zichtbaar is door de ongeschoren huid aan de binnenkant van de bovenarm van een resusaap. (B) Op een röntgenfoto is het implantaat ook te zien. (C) Applicator met *één* derdedeel van een Implanon®-implantaat.

Fig. 16 Illustratie van de werking van het Implanon®-implantaat. Het implantaat geeft etonogestrel af in de bloedbaan. Dit hormoon remt de productie van GnRH in de hypofyse, waardoor er geen LH en FSH vrijkomen en er geen eisprong in de eierstokken plaatsvindt. Daarnaast zorgt etonogestrel ervoor dat het slijmvlies van de baarmoeder (endometrium) dun blijft en dat het slijm in de baarmoedermond (cervix) dikker wordt, waardoor zaadcellen moeilijker de baarmoeder kunnen binnendringen.



Tabel 2. Gegevens gebruikt om de effectiviteit van Implanon®-implantaat te berekenen bij resus- en cynomolgusmakaken in aanwezigheid van een vruchtbare mannelijke makaak.

	Resus	Cynomolgus
Aantal dieren	109	52
Aantal implanon®	116	87
Aantal in-treatment zwangerschappen	2	1
Geen zwangerschap (%)	99.80	99.95

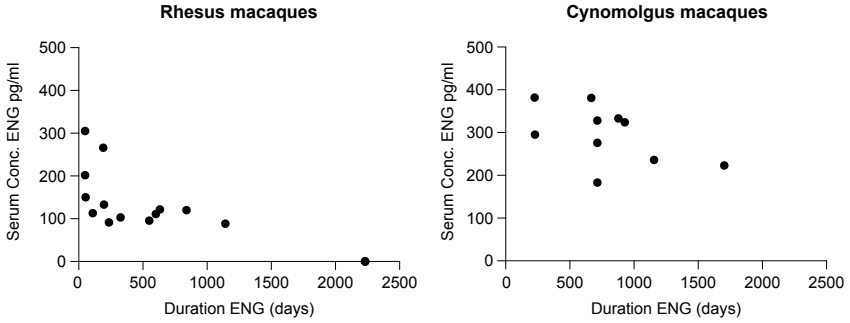


Fig. 17 Serumconcentraties (pg/ml) van het hormoon etonogestrel (Implanon®) bij resusmakaken (links) en cynomolgusmakaken (rechts) met een implantaat ter grootte van een derde deel van het Implanon®-implantaat, weergegeven in relatie tot de duur van het implantaat in dagen, gerekend vanaf de dag van plaatsing. Bij mensen wordt een serumconcentratie van 90 pg/ml als effectieve drempelwaarde aangehouden.

Wat betekent dit?

Het Implanon®- implantaat is een langdurige, omkeerbare en veilige vorm van anticonceptie voor makaken. Het maakt dagelijkse of maandelijkse behandelingen overbodig en helpt bij het verantwoord beheren van groepen of bij individuele diergeneeskundige indicatie.

Conclusie

Etonogestrel-implantaten zoals Implanon® zijn een effectieve en diervriendelijke manier om zwangerschappen bij makaken te voorkomen.

8

Van injectie tot darm: onderzoek naar de werking van ampicilline bij resusapen en de gevolgen voor hun darmflora

Annemiek Maaskant, Ingeborg M. van Geijlswijk, Mathias Devreese, Marc Cherlet, Leo van Geest, Jaap A. Wagenaar, Jan A.M. Langermans, Aldert L. Zomer, Jaco Bakker*, Ronette Gehring*

*Deze auteurs hebben evenveel bijgedragen en delen daarom de laatste auteurspositie

Doel van het onderzoek

Resusmakaken zijn sociale dieren die in groepen leven. Wanneer een resusmakaak gewond raakt, bijvoorbeeld door een vechtpartij, kunnen de wonden geïnfecteerd raken en antibiotica nodig hebben. Het geven van antibiotica aan resusmakaken in groepen kan echter stress veroorzaken, zowel bij het zieke dier als bij de rest van de groep. Bovendien vermijden resusmakaken vaak medicijn-houdend voer. Daarom onderzochten we of een langwerkend antibioticum, dat minder vaak gegeven hoeft te worden, veilig en effectief kan zijn. Dit onderzoek richtte zich op een speciaal langwerkend ampicilline-implantaat (Albipen® LA) en hoe dit het darmmicrobioom en de aanwezigheid van antibiotica-resistentiegenen beïnvloedt.

Hoe werd dat onderzocht

Vier vrouwelijke resusmakaken kregen het langwerkende ampicilline-injectie. Twee resusmakaken kregen eerst een standaardinjectie via de ader en daarna een intramusculaire (in de spier) injectie van Albipen® LA, terwijl de andere twee alleen de spierinjectie kregen. Tijdens de studie werden bloed- en urinemonsters genomen om te meten hoeveel antibioticum in het lichaam aanwezig was en hoe lang het werkte. Ook werden er ontlasting monsters genomen om te kijken hoe het darm microbioom en de resistentiegenen veranderden na de injectie.

Belangrijkste resultaten

Alle resusmakaken bleven gezond en er werden geen bijwerkingen zoals zwelling of pijn op de injectieplaats gezien. De langwerkende ampicilline bleef tot 48 uur in het bloed op een niveau dat effectief is tegen bepaalde bacteriën. Dit betekent dat het medicijn om de dag kan worden gegeven. De urine van de resusmakaken bevatte veel hogere concentraties antibioticum dan het bloed, wat laat zien dat de nieren het middel efficiënt uitscheiden. Er waren verschillen tussen de resusmakaken in hoe snel en hoeveel antibiotica via de urine werd uitgescheiden, waarschijnlijk door individuele verschillen. Wat betreft het darmmicrobioom: kort na de injectie nam de diversiteit van de bacteriën tijdelijk af, maar na ongeveer 10 dagen was dit hersteld. Ook werden de genen die resistentie tegen beta-lactam antibiotica veroorzaken (zoals ampicilline) tijdelijk verhoogd, maar daalden weer zodra het antibioticumniveau in het bloed afnam.

Wat betekent dit

Deze resultaten laten zien dat het langwerkende ampicilline veilig en effectief is voor gebruik bij resusmakaken in sociale groepen. Het kan om de dag worden toegediend, waardoor stress wordt verminderd en de behandeling volledig kan worden uitgevoerd.

Resistentiegenen zijn stukjes DNA die bacteriën beschermen tegen antibiotica. Als een bacterie zo'n gen heeft, kan het medicijn niet meer goed werken om de bacterie te doden. Dit is belangrijk omdat antibiotica dan minder effectief worden, waardoor infecties moeilijker te behandelen zijn. Bovendien kunnen deze genen worden doorgegeven aan andere bacteriën, waardoor steeds meer bacteriën resistent kunnen worden. In ons onderzoek is het effect op het darmmicrobioom en de resistentiegenen tijdelijk, wat belangrijk is voor de gezondheid van de resusmakaak en het beheersen van antibioticaresistentie.

Conclusie

Het langwerkende ampicilline (Albipen® LA) kan eens in de twee dagen worden gegeven om bacteriële infecties te behandelen bij resusmakaken. Een enkele injectie veroorzaakt slechts een korte en tijdelijke verandering in het darmmicrobioom en de niveaus van resistentiegenen.

Appendices

Annemiek Maaskant

Wat we geleerd hebben

Huisvesting

Voor makaken zijn er nog geen duidelijke veilige grenzen vastgesteld voor hoeveel stof, endotoxine en ammoniak ze mogen inademen. In ons onderzoek bleven de gemeten waarden wel binnen de grenzen die voor mensen gelden. Maar we weten niet precies wat langdurige blootstelling aan lage hoeveelheden voor de gezondheid van de makaken betekent. Daarom is het belangrijk om in de toekomst speciale grenswaarden voor makaken vast te stellen. Dit kan helpen om de luchtkwaliteit beter te regelen en het welzijn van de dieren te verbeteren, ongeacht het type verblijf of het aantal dieren. Mogelijk is het beter zijn om in plaats van een vaste ventilatiefrequentie een systeem te gebruiken dat alleen lucht ververst als dat echt nodig is. Zo'n vraag-gestuurd systeem reageert op vooraf bepaalde grenswaarden en kan duurzamer en goedkoper zijn, zonder dat het ten koste gaat van de gezondheid en het welzijn van de dieren.

Verzorging

Richtlijnen voor het dieet van NHP zijn vaak gebaseerd op verouderde literatuur. Deze literatuur was primair gericht op deficiëntieverschijnselen van bepaalde micro en macronutriënten bij de mens. De richtlijnen reflecteren daarom eerder wat de minimale behoefte zijn en niet zozeer wat de optimale behoefte van makaken zijn. Kortom, het standaard brokken dieet kan voor een aantal makaken het verschil maken voor hun darmgezondheid. Het is daarom aan te raden om bij darmproblemen het dieet te (her)evalueren.

Onze resultaten laten zien dat het onderzoeken van het darmmicrobioom een belangrijke nieuwe manier is om de gezondheid te beoordelen. Op dit moment wordt deze methode nog niet veel gebruikt, omdat het onderzoek duur is en de monsters naar gespecialiseerde laboratoria moeten worden gestuurd. Bovendien is er veel specialistische kennis nodig om de resultaten goed te begrijpen.

Om het microbioom makkelijker toegankelijk te maken voor dierenartsen en eigenaren, hebben we gekeken of het mogelijk is om het microbioom te voorspellen met behulp van een foto van een ontlastingsuitstrijkje. We ontwikkelden een slim computerprogramma (AI) dat met behulp van geavanceerde technieken zoals machine-learning en deep-learning aan de hand van zo'n foto kan voorspellen hoe gezond het microbioom is.

Dit programma kan bijvoorbeeld bepalen of het microbioom veel of weinig verschillende soorten bacteriën bevat, wat belangrijk is omdat een gevarieerd microbioom meestal wijst op een gezonde darm. Ook kan het programma zien of de ontlasting dun of normaal is, wat helpt om te beoordelen of een behandeling effect heeft gehad. Zo wordt het oordeel minder afhankelijk van de mening van de onderzoeker of eigenaar.

Daarnaast kan het programma bepaalde belangrijke bacteriegroepen herkennen, zoals butyraat-producerende bacteriën. Butyraat is een stofje dat helpt om de darm gezond te houden door de darmwand te voeden en ontstekingen te verminderen.

Hoewel het programma al goed werkt, kan het nog niet het hele microbioom volledig in kaart brengen, omdat het darmmicrobioom erg complex is. Door meer gegevens te verzamelen en verschillende diersoorten mee te nemen, kan het programma nog beter en breder ingezet worden in de toekomst. Hiermee maken we een belangrijke stap richting een snelle en toegankelijke manier om darmgezondheid te controleren.

Diergeneeskundige zorg

Betrouwbare anticonceptiemethoden zijn belangrijk voor het beheer van groepen makaken en voor individuele diergeneeskundige redenen. Hierbij hebben minimaal invasieve, langwerkende en omkeerbare methoden de voorkeur. Uit onderzoek blijkt dat het subdermale implantaat etonogestrel (bekend als Implanon®) zeer effectief en veilig is als anticonceptie voor makaken. Het voorkomt zwangerschap betrouwbaar en is omkeerbaar, zodat dieren na verwijdering weer vruchtbaar worden. Ook werkt het implantaat langer dan de voorgestelde drie jaar, soms tot wel vijf jaar.

Daarnaast is onderzocht of een langwerkend antibioticum, ampicilline (Albipen LA®), geschikt is voor makaken. Voor behandeling van gevoelige bacteriën, is een enkele injectie per twee dagen voldoende, waardoor dagelijkse injecties niet nodig zijn. Dit vermindert stress voor de dieren. Hoewel de behandeling het darmmicrobioom en de aanwezigheid van antibiotica-resistentiegenen tijdelijk beïnvloedt, herstellen deze binnen korte tijd weer.

Antibiotica is van onmisbare waarde voor het behandelen van zieke dieren. Maar het is belangrijk om te realiseren dat het gebruik effect heeft op het darm microbioom en het resistoom. De resistentie genen die in de darm ontstaan kunnen doorgegeven worden aan kooigenoten. Verantwoord en selectief gebruik van antibiotica is, zoals in andere diergeneeskundige sectoren, van belang om resistentie ontwikkeling te voorkomen.

Eind conclusie

Dit proefschrift toont aan dat, hoewel makaken veelvuldig als diermodellen worden gebruikt, er aanzienlijke hiaten bestaan in onze kennis over hun soort specifieke gezondheid en verzorging. Dit benadrukt het belang van voortdurende verfijning in de zorg voor NHP in onderzoeksfaciliteiten. Onze resultaten laten zien dat verfijningen in huisvesting, verzorging en veterinaire zorg de gezondheid en het welzijn van makaken ten goede komen. Door onderzoek te doen naar de binnen luchtkwaliteit, voedingsinterventies voor de darm gezondheid en de optimalisatie van twee behandelingen, hebben we manieren aangetoond om het dierenwelzijn te verbeteren. Bovendien laat de ontwikkeling van AI-gestuurde tools zien hoe innovatieve benaderingen de diergezondheid kunnen ondersteunen. Deze onderzoeken bevestigen de voortdurende toewijding aan de 3V's-principes, wat verzekert dat de zorg voor makaken in biomedisch instellingen aan hoge standaarden blijft voldoen.

Wist je dat…

- We 682 ontlasting samples hebben verzameld
- Dat dit een unieke verzameling van data is
- Dat dit (ook buiten het dieet onderwerp) interesse heeft van externe wetenschappers
- Je disco-shit niet bij ali-express hoeft te bestellen, je kan het zelf maken
- Je neus een onbetrouwbare tool is voor het vaststellen van het ammoniak gehalte
- Er 114 papiertjes met poep zijn besmeerd en daar prachtige foto's van zijn genomen
- We bijna 4,5 liter apen urine hebben verzameld en dat dit een fractie is van wat we in het vervolg onderzoek hebben opgevangen
- de urinebakken 'oude stijl' vervangen zijn met meer werkbare mobiele bakken
- dit ondanks dat, nog steeds een pis-klusje was
- urineflessen spoelen ook een zeik klus was
- we alle woordgrapjes met pies en poep wel gemaakt hebben
- trakteren alle bloed zweet (en tranen?) doet vergeten
- nieuwe schoenen trouwens ook
- maar dan komen de tranen pas als je er niet zo goed op kan lopen
- er in totaal 364 baarmoeder echo's gemaakt zijn
- ik super trots op jullie ben
- ik dankbaar ben voor jullie inzet en betrokkenheid

Dankwoord

If you decide to become a veterinarian, you will never grow rich
but you will have a life of endless interest and variety
James Herriot

Want wat is het werk als apen-dierenarts interessant en gevarieerd! Het ene moment sta ik een keizersnede te doen en terwijl ik me afvraag of het gekozen (noodzakelijke) antibioticum, de dosering en het doseringsinterval wel juist zijn, halen de apen met vakkundige precisie de hechtingen uit de net gesloten wond. Op een ander moment weer een andere uitdaging: apen laten weinig klinische verschijnselen zien terwijl ze heel ziek zijn. Als er dertig dieren in een verblijf zitten en er heeft iemand diarree — spetters aan de muur, —dan vraag ik me af hoe ik de verdachte patiënt kan identificeren en vooral: hoe kunnen we voorkomen dat dieren diarree krijgen? Aan variëteit in problemen dus geen gebrek.

Al deze vragen en ideeën werden door mijn promotor Jan Langermans en co-promotor Jaco Bakker met enthousiasme ontvangen. Jullie leerden mij om deze brij aan vragen en ideeën gestructureerd te benaderen en in een wetenschappelijke vorm te gieten. Jullie waren altijd bereid om mee te denken, of me terug te sturen naar de kern als ik dreigde te verzanden in leuke weetjes waarvan ik dacht dat iedereen die wel zou willen weten. Maar jullie leerden me ook dat je soms moet accepteren dat het praktisch onmogelijk is om alle vragen te beantwoorden, en dat je het dan ook los moet laten. Jullie gaven me de ruimte om, naast mijn dierenartsenwerkzaamheden, me te kunnen en mogen ontwikkelen als onderzoeker. Jan, hoe druk je ook was, ik kon altijd bij je binnenlopen om te overleggen. Je enthousiasme over wetenschap werkt aanstekelijk, en je vertrouwen en optimisme had ik nodig! Jaco, het was heel fijn om laagdrempelig met je te kunnen sparren. Ook heel erg fijn dat je binnen no-time de manuscripten van feedback voorzag. En nog fijner: jij kon mijn frustraties en paniekmomentjes altijd goed relativeren. Wetenschap gaat langzaam, morgen weer een dag en vanavond lekker patatjes gaan eten.

Ed, naast dat je me enorm hebt geholpen om wegwijs te worden in onderzoeks-methodieken en RStudio, was je altijd bereid om met veel enthousiasme statistische ondersteuning te verlenen. We konden wel eens verzanden in de vele ideetjes die we samen hadden, maar het resultaat was altijd een solide statistische onderbouwing van de resultaten. Daarnaast hebben we geen enkel moment onbenut gelaten om een grapje over het centrale onderwerp van mijn thesis te maken. Sterker nog, ik denk dat we alle mogelijke poepgrapjes wel gemaakt hebben. Echter, om dit met zekerheid te kunnen zeggen is verder onderzoek noodzakelijk… Daarnaast weet ik nu dat wij niet de enigen zijn die een poepgrapje niet schuwen! Van Fokke en Sukke stellen vlot de diagnose, figuurpoepen van Kooten en De Bie, Kabouter Prikkeprak van Theo en Thea...

Hilarisch! Ed, je bent een vakkundige, behulpzame en zeer gezellige collega, ik hoop nog veel met je te mogen samenwerken!

Marieke, Jij hebt minstens zoveel ideetjes en was mijn partner in crime bij het verzamelen van (zoveel mogelijk) data. Jij hebt mij door het eerste artikel op het BPRC geloodst. Vriendelijk en vakkundig stuurde je me weer terug naar de kern van het verhaal, als ik weer eens een hele dag had besteed aan het zoeken van literatuur en was gestuit op zoveel leuke zijsporen en weetjes die ook opgeschreven moesten worden. Helaas is dit artikel niet in mijn proefschrift gekomen. Maar wat ik van je geleerd had, kon ik gelijk weer toepassen in onze tweede samenwerking: het Implanon-stuk! Daarnaast heb je een woord toegevoegd aan mijn lievelingswoordenwoordenlijst: knipmasker… knipmasker… knipmasker… heerlijk toch?! Dankjewel dat je altijd klaarstond om te helpen en mee te denken!

Zonder het vakkundige team van dierverzorgers was dit proefschrift niet mogelijk geweest; heel veel dank voor jullie tomeloze inzet. Alle ideetjes moesten namelijk ook uitgevoerd worden… van aangepaste schoonmaakschema's, assistentie bij het plaatsen van meetapparatuur in de kooien, het scoren van consistentie van de ontlasting, het verzamelen van urine en bloed… Het is dan ook zeer aannemelijk dat iedere dierverzorger op het BPRC in de afgelopen jaren op enig moment betrokken was bij het documenteren of wel het uitvoeren van deze 'shit'-zaken. Dank aan jullie allen!

Antoine, wat dus begon met een onschuldig ideetje, draaide uit op een tweejarig project waarbij je iedere twee weken gekleurde poep moest verzamelen en met een zaklampje op zoek moest naar glitterpoep. Want, om poep van een individu te herkennen, gaven we de dieren taartkleurstof of glitters. Sommigen zullen nu denken: disco-drollen!!! Helaas, het waren eerder 'silent-disco'-drollen; de glitterkleuring was dusdanig subtiel dat je op de hurken met een zaklampje moest zoeken. Daarnaast had je belangrijke praktische oplossingen als ik onpraktische ideetjes had. Samen met Malinda en Monica zijn er een heleboel poepje verzameld. Al deze inspanningen hebben wel geleid tot maar liefst vier publicaties!

Daarnaast had ik ook nog wel eens een klusje in de avond, ook dan kon ik op het team van dierverzorgers rekenen. Of het nu was om de luchtkwaliteit in de nacht te meten of in de avond een bloedmonster te nemen, er was altijd iemand bereid om mij te helpen. Sacha, Antoine, Rowdy, Miranda, Annelies, Kimberly, Wesley, Leo, Yara en Bart, super bedankt voor jullie inzet! Iwan, naast jouw dierverzorging werkzaamheden ben je een geweldige kunstenaar; voor de dieren en van de dieren. Dankjewel voor de prachtige tekening op de kaft van dit proefschrift! Sacha, dank dat ik met avonddienst bij je mocht komen eten, en wat kun jij heerlijk koken!!! Daarnaast ben je net als Yara ook nog eens top leverancier van mooie apenfoto's die ik veelvuldig in mijn presentaties gebruik! Niet te vergeten, de collega's die niet meer op het BPRC werkzaam zijn, maar destijds hebben bijgedragen.

Dan mijn kamergenoten, Team Vetcare, Leo, Merel en Jaco. Jullie zaten met mij opgescheept in voor- en tegenspoed. Dank voor jullie gezelligheid en steun! Leo, altijd bereid om mee te denken, mee te plannen en spullen voor me te bestellen. Maar ook een extra avonddienstje om mij te helpen was nooit een probleem. Daarnaast lachen we wat af en mogen we elkaar graag een beetje voor de gek houden. Merel, zeker tijdens de laatste loodjes van dit proefschrift was jij nooit te beroerd om te helpen om even naar een patiëntje te gaan kijken. Tja Jaco, ik geef jou toch wel de schuld van de aangekomen kilo's… de altijd goed gevulde snoeppot… mijn hand…maar toch jouw schuld… Jullie zijn fantastische collega's, ik hoop nog lang met jullie samen te werken!

Ook dank aan alle andere ASD'ers; Annet, we hebben best een hoop uurtjes samen zitten uitzoeken of er een vruchtbare man bij een vrouw met Implanon had gezeten. Tijdens deze zoektocht kwamen mooie verhalen en anekdotes naar boven over de apen. Edwin en Jacqueline, dank voor de ondersteuning op het bloedlab. Gert-Jan, altijd bereid om het papierwerk voor allerlei zaken te regelen en het maken van foto's. Alle mede- en ex-PhD'ers, dankjewel voor de interessante discussies, overlegjes en gezellige koffiepauzes. Dian, zoals jij in jouw proefschrift schreef: 'Keep it simple'… veel aan gedacht, niet altijd gelukt. Tina, samen in de laatste fase van de PhD, dat leverde fijne gesprekken op. Van PhD-stress tot vakinhoudelijke stress. Fijn om te kunnen sparren over de verschillende matrices waarin je cortisol kan bepalen. Wat is poep toch een poepmatrix om cortisol te bepalen!

Thea, ja jeetje, hoe ga ik jou bedanken? Mijn steun en toeverlaat, of het nou om de organisatie van een symposium gaat, het editen van een artikel... Je staat altijd klaar om hand- en spandiensten te doen om mijn manuscripten te editen zodat ze gesubmit konden worden. Niet te vergeten de laatste monsterklus: het eenduidig maken van mijn proefschrift. Hierdoor kon ik met minder stress doorschrijven aan het laatste manuscript, nog even een studie ernaast draaien en mijn reguliere werk als dierenarts doen. Uit de grond van mijn hart, dankjewel voor alles wat je de afgelopen jaren voor mij hebt gedaan!

Francisca, zonder jou had dit proefschrift er niet zo mooi uitgezien! Bedankt voor alle tijd, moeite en creativiteit die je hebt gestoken in de vormgeving van dit proefschrift, de verschillende figuren en natuurlijk ook de posters! Jij wist zelfs de figuren met poepfoto's mooi te maken!

Tja, door de variëteit aan ideetjes waren de verzoekjes aan de Technische Dienst ook nogal uiteenlopend. Van mobiele urinebakken tot apenproof bescherming van meetapparatuur die bevestigd moest worden aan het plafond. Voor jullie was niets een probleem!

Isabel, toen student en inmiddels gewaardeerd gezelschapsdierenarts, je was een onmisbare kracht tijdens het stal klimaatonderzoek. Gemotiveerd, georganiseerd en gezellig, en op de meetdagen kon ik volledig op je rekenen.

Voor de klusjes die ik op het lab moest doen, waren Danielle en Ella mijn steun en toeverlaat. Jullie waren altijd behulpzaam met het zoeken naar alternatieven als er weer eens iets uit de handel genomen was, of iets plotseling een besteltermijn had van vele maanden

Alle muzikale vrienden. In het bijzonder Ron, Kim, Mylene, Frans, Bianca, Menno, Wilco en Harrry. Zoals de meesten van jullie wel weten, is doseren niet mijn sterkste punt… bedankt voor alle steun en begrip als de balans weer eens doorsloeg naar werk, werk, werk, werk. Het was fijn om soms even bij de les geroepen te worden dat er meer in het leven is dan apen en onderzoek! Gewoon even praten over wat anders of samen muziek maken. Maar bovenal: altijd gezellig met jullie want zonder drank geen klank!

Femilie en vrinde oét Venlo, vaste prik: idder jaor ôntspanne mit de vastelaovend, in ôs stedje van lol en plezeer! Ein paar daag joeks en jen: schaele wazel, meziék make (träöte)……d'r eine?…twiee??…dreej???…of wat miër (cola) drinke!
Dreej daag van: laot gaon dae wage……As of ik noeits oét Venlo bin weg gewaes!

Dana, mijn prosecco-buddy, dank voor je interesse en dat je openstaat voor de werkzaamheden die ik doe. Daarnaast trouwe leverancier van eierdozen en favoriete lectuur voor de apen: de *Margriet*!

Pap, mam, danke det geej d'r altièd veur mich ziet! Mam, dich haes altièd taege mich gezag: 'as dich iets hièl gaer wils, dan kinse det ouk'! Ein onmisbare laevesles.
Pap, 't neet kinne dosere heb ik van genne vraemde, 't vas biète en neet los laote ouk neet. Dank veur dien begrip, vertrouwe, steun en interesse. Ôntspanne ièes aete beej dae van Clevers, of gewoen schaele wazel, want det heb ik ouk van genne vraemde! Renée, dankjewel dat ik bij jou altijd een luisterend oor had om te zeuren, een succesje te vertellen of als ik even in de 'piepzak' zat.

Ellert, Intermitterende chronische goedaardige verwaarlozing, zo noem ik het maar even. En daar heb je nooit over geklaagd! Je hebt me altijd de ruimte gegeven en begrip gehad voor mijn werkpassie, ook als deze met enige regelmaat slecht gedoseerd was. Op de juiste momenten wist je me er toch van te overtuigen dat het misschien *wél* een goed idee is om een weekendje samen weg te gaan. Dankjewel voor je onvoorwaardelijke liefde en steun. Ik kijk uit naar onze reis!

Erkenningen en bronvermelding

De bedrijven Kasper Faunafood (Woerden, Nederland) en Altromin Spezialfutter GmbH (Lage, Duitsland) hebben de brokken die in dit onderzoek werden gebruikt, kosteloos geleverd. Deze bedrijven hebben geen invloed gehad op de opzet van het onderzoek, de verzameling en analyse van de monsters, de interpretatie van de resultaten, of op het schrijven en publiceren van het artikel. De iconen die in de QR-codes zijn gebruikt, zijn afkomstig van Flaticon.com; Valeria (blz. 13), BSD (blz. 23), Freepik (blz. 19, 27, 33) Darius Dan (blz. 39) GOWI (blz. 57). Het volledige manuscript, inclusief alle referenties en de affiliaties van de auteurs, is te raadplegen via: https://doi.org/10.33540/3210