

stowa

STOWA-VISIE

DNA-TECHNIEKEN IN HET WATERBEHEER



2020
28

stowa

STOWA-VISIE

DNA-TECHNIEKEN IN HET WATERBEHEER



TEN GELEIDE



Monitoringstechnieken die gebaseerd zijn op het uitlezen van de genetische code van organismen hebben hun intrede gedaan in het waterbeheer. Deze nieuwe methoden bieden alternatieve mogelijkheden van het opsporen van organismen en het verkrijgen van inzicht in het watersysteem en de waterketen. Dit rapport beschrijft de achtergrond van de techniek en gaat in op een aantal toepassingen in het waterbeheer en hun haalbaarheid.

In het DNA is de genetische code van een organisme vastgelegd. Deze code is voor ieder organisme uniek. Na voorbewerking kan het DNA-profiel van organismen bepaald worden. Niet alleen van de organismen die nu al routinematig geanalyseerd worden, zoals vissen, het fytoplankton, blauwalgen en zoöplankton, maar ook van andere organismen, die voorheen niet in de analyse werden meegenomen. Denk aan bacteriën en ziekteverwekkende organismen, die een belangrijk aanvullend inzicht geven in het watersysteem en waterkwaliteit.

De DNA-technieken stellen waterbeheerders in staat sneller en vollediger een beeld te krijgen van het ecologisch functioneren van watersystemen en van de mogelijke risico's die kleven aan het gebruik van oppervlaktewater voor recreatiedoeleinden en drinkwaterproductie. Een extra dimensie vormt het analyseren van het 'environmental DNA', het eDNA. Hierbij worden losgelaten cellen van hogere organismen, zoals vissen en muskusratten geïdentificeerd. Deze analyses kunnen bijvoorbeeld worden benut bij monitoring voor de Kaderrichtlijn water, maar ook voor het strategisch inzetten van muskusrattenbestrijders.

De in dit rapport beschreven technieken en toepassingen zijn grotendeels rijp voor gebruik in het waterbeheer, maar dienen nog wel gestandaardiseerd en opgeschaald te worden. In de toekomst zullen wetenschappelijke ontwikkelingen en ervaringen met toepassing in de praktijk aanleiding zijn de methoden verder aan te scherpen. Daarbij zal worden aangesloten bij de bevindingen van andere Europese landen, die verenigd in DNAqua.net ervaringen uitwisselen en standaarden ontwikkelen. Hiermee bieden DNA-technieken binnen afzienbare tijd een belangrijke bijdrage aan het waterbeheer.

Bij dit rapport is een Deltafact opgesteld en een korte animatie gemaakt. Beide zijn te benaderen via de website van de STOWA.

JOOST BUNTSMA

Directeur



SAMENVATTING

DNA-technieken kunnen de monitoring in het waterbeheer drastisch veranderen. Vanuit een behoefte-inventarisatie bij de waterschappen zijn voor de vier domeinen (watersystemen, afvalwatersystemen, waterketen en waterwieren) relevante thema's geïdentificeerd waarvoor DNA-technieken kunnen worden ingezet. Per domein is vervolgens uiteengezet in hoeverre DNA-technieken al klaar zijn voor de praktijk of welke tussenstappen gemaakt moeten worden om dit te realiseren. Deze inventarisatie vormt de basis voor een visie op de toegevoegde waarde van DNA-technieken in het waterbeheer en hoe deze het beste kunnen worden geïmplementeerd.

WATERSYSTEMEN

Via DNA-technieken kan de biodiversiteit in watersystemen worden bepaald en beoordeeld. Ze leveren echter wel een ander type informatie in vergelijking met de huidige methoden, die organismen aan de hand van hun morfologische kenmerken inventariseren. Hierdoor zijn de resultaten van DNA-technieken en morfologische technieken slechts ten dele vergelijkbaar. Het is daarom effectiever om de resultaten van een DNA-analyses als uitgangspunt te nemen voor watersysteemmonitoring. Hierdoor kunnen belangrijke voordelen van DNA-technieken optimaal worden benut zoals opschaalbaarheid, beperkte monitoringsinspanning, kostenefficiëntie, een completer inzicht in de biodiversiteit en eenvoudig reproduceerbare resultaten.

DNA-technieken hebben in onderzoek en pilotstudies al bewezen inzetbaar te zijn voor het beoordelen van vervuilingsgradiënten of de ecologische toestand. De volgende stap is om een verdere kalibratie tussen DNA-data en omgevingsfactoren te maken, zodat DNA-analyses eenvoudig vertaald kunnen worden naar ecologisch inzicht in het watersysteem. Hiervoor dient ook gewerkt te worden aan een verdere standaardisatie van de toegepaste DNA-technieken, wat bijdraagt aan reproduceerbare resultaten en een kostenefficiënte inzet. Zo kan de monitoringsfrequentie worden verhoogd en het monitoringsnetwerk worden verdicht, wat bijdraagt aan een verbeterde systeemkennis en handelingsperspectief.

Naast ecologische systeemkennis kunnen DNA-technieken ook worden ingezet voor het opsporen en kwantificeren van ziekteverwekkers in bijvoorbeeld zwemwater. Zo kunnen bronnen van fecale bacteriën worden opgespoord of blauwalgentoxineconcentraties worden ingeschat. Momenteel loopt er onderzoek om deze analyses op locatie uit te voeren, waardoor in plaats van wekelijks, dagelijks inzicht wordt verkregen in de waterkwaliteit. Zo dragen DNA-technieken bij aan het verlagen van gezondheidsrisico's rond zwemlocaties.

AFVALWATERSYSTEMEN

Afvalwatersysteembeheerders willen DNA-analyses inzetten om het zuiveringsproces op rwzi's te verbeteren. Hierin verschilt de vraag van de afvalwatertechnologen ten opzichte van watersysteembeheerders, met respectievelijk focus op het in kaart brengen van processen in plaats van biodiversiteit als maat van het biologisch functioneren van een systeem. DNA-analyses hebben bewezen uitermate geschikt te zijn om de microbiële samenstelling op rwzi's in kaart te brengen. Om deze informatie in te kunnen zetten voor procesverbeteringen is het cruciaal om de verbinding te leggen tussen microbiële samenstelling en de zuiveringsprocessen. Hiervoor is aanvullend

onderzoek noodzakelijk. Wel kunnen DNA-technieken nu al in de praktijk worden ingezet bij het bepalen van de impact van effluentlozingen op het oppervlaktewater, het aantonen van rwzi-lekkages naar het grondwater of het opsporen van ziekteverwekkers in het afvalwater.

WATERKETEN

DNA-analyses geven aanvullend inzicht in de processen die zich afspelen binnen een rioolstelsel. Toepassingen zijn het opsporen van rioolbuiserosie en het identificeren van pathogenen in afvalwater. Deze pathogenen-analyses bieden zowel inzicht in ontwikkelingen in de volksgezondheid (aantonen COVID-19 coronavirus) als potentiële gezondheidsrisico's rond rioolwater. Het routinematig inzetten van DNA-technieken biedt de mogelijkheid deze risico's continue te monitoren. Daarnaast kunnen DNA-technieken worden ingezet voor het opsporen van lozingen als deze een onderscheidende biologische component bevatten (slachtafval, plantenmateriaal etc.).

WATERWEREN

De primaire functie van het domein waterweren is de waterveiligheid in Nederland te borgen. Hierbij is het van groot belang een actueel beeld te hebben van de toestand van de dijken en of er mogelijke risico's zijn die leiden tot verzwakkingen. DNA-technieken worden nu al effectief ingezet voor het opsporen van muskusratten en rivierkreeften, waarmee ze al praktisch bijdragen aan het bestrijden van schade aan dijken. Mogelijk zijn DNA-technieken ook in te zetten om een beeld te krijgen van de biologische processen die zich afspelen in dijken (zoals afbraakprocessen), die van invloed kunnen zijn op de dijkstabiliteit. Ten slotte kan men ook met DNA-technieken de biodiversiteit op en rond dijken in kaart brengen.

VISIE OP DE TOEPASSING VAN DNA-TECHNIEKEN IN HET WATERBEHEER

Tussen de verschillende waterbeheerdomeinen zijn er gedeelde thema's waarbij DNA-technieken kunnen worden ingezet. Zo overlappen de domeinen watersystemen, afvalwatersystemen en waterketen in hun ambitie om een beter inzicht te krijgen in de impact van afvalwater op het oppervlaktewater. Ook willen deze domeinen een beter beeld krijgen in de aanwezigheid van ziekteverwekkers in de waterketen. Deze gedeelde thema's bieden kansen om gezamenlijk DNA-methoden en faciliteiten te benutten en de samenwerking tussen de domeinen vanuit een gedeelde techniek te vergroten. Ook kan vanuit één DNA-monster meerdere doelen worden bediend (bijvoorbeeld muskusratten opsporen en biodiversiteit analyseren). Hierdoor kunnen waterbeheerders het monitoringsnetwerk domein-overstijgend inrichten, waardoor dit efficiënter kan worden ingezet. Voor een verdere implementatie en kostenefficiënte inzet van DNA-technieken zal er ook op een verdere standaardisatie van de toegepaste methoden moeten worden ingezet.

Uit de enquête afgenomen voor deze studie blijkt dat waterbeheerders van de verschillende domeinen nog maar beperkt op de hoogte zijn van hoe DNA-toepassing werken en hun voor- of nadelen. Daarom hebben zij aangegeven een grote behoefte te hebben aan een basiscursus DNA voor waterbeheerders. Vanuit deze kennisimpuls kan dit een goed startpunt zijn voor de ontwikkeling van een gezamenlijk DNA-monitoringsprogramma.

INHOUDSOPGAVE

A photograph of two men in waders working in a stream. The man on the left is kneeling and using a laptop. The man on the right is kneeling and looking at something in his hand in the water. The background shows green foliage and a clear sky.

	Ten geleide	2
	Samenvatting	4
1	INTRODUCTIE	8
2	DOMEIN WATERSYSTEMEN	10
2.1	Monitoringswensen waterbeheerders	11
2.2	Toepassingen van DNA-technieken in watersysteemmonitoring	12
2.3	Ziekteverwekkers identificeren in het oppervlaktewater	14
2.4	Implementatie van DNA-technieken in reguliere monitoringprogramma's	14
3	DOMEIN AFVALWATERSYSTEMEN	18
3.1	Monitoringswensen afvalwatersysteembeheerders	19
3.2	DNA-analyses en zuiveringsrendementen	19
3.3	Van rwzi naar het milieu	21
3.4	Gezondheidsrisico's	21
3.5	Implementatie van DNA-technieken in reguliere monitoringprogramma's	22
4	DOMEIN WATERKETEN	24
4.1	Monitoringswensen waterketenbeheerders	25
4.2	DNA-analyse voor rioolstelselbeheer	25
4.3	DNA-analyse voor het identificeren van gezondheidsrisico's	25
4.4	DNA-analyse voor het identificeren van rioolvreemde stoffen en lozingen	26
4.5	Implementatie van DNA-technieken in monitoringprogramma's	26
5	DOMEIN WATERWEREN	28
5.1	Monitoringswensen waterwerenbeheerders	29
5.2	Opsporen van muskusratten en rivierkreeften	29
5.3	Dijkstabiliteit en biologische processen	29
5.4	Biodiversiteitsmonitoring op en rond dijken	30
5.5	Implementatie van DNA-technieken in monitoringprogramma's	30
6	VISIE OP DE TOEPASSING VAN DNA-TECHNIEKEN	32
6.1	Gedeelde thema's	33
6.2	Nieuwe kijk op monitoring in het waterbeheer	34
7	REFERENTIES	36
	BIJLAGEN	44
	Bijlage 1 Watersystemen	45
	Bijlage 2 Afvalwatersystemen	55
	Bijlage 3 Waterketen	60
	STOWA IN HET KORT	64
	Dankwoord	65
	Colofon	66



HOOFDSTUK 1 INTRODUCTIE

DNA-technieken kunnen onderzoek en monitoring binnen het waterbeheer drastisch veranderen. Door biotechnologisch en biomedisch onderzoek zijn DNA-technieken in hoog tempo verder ontwikkeld, waardoor deze voor steeds diepgaandere analyses worden ingezet tegen sterk gereduceerde kosten. Ook zijn de methoden steeds eenvoudiger toe te passen met aantoonbaar reproduceerbare resultaten (Aires-de-Sousa e.a. 2006). Door deze technologische ontwikkelingen in de afgelopen tien jaar worden DNA-technieken op steeds grote schaal toegepast en ook in onderzoeksvelden als aquatische ecologie (Rees e.a. 2014; Goldberg, Strickler, en Pilliod 2015; Deiner e.a. 2017), afvalwatertechnologie (Schmitt e.a. 2017) en zelfs in citizen science projecten (Biggs e.a. 2015).

Onder andere geïnitieerd door STOWA zijn de afgelopen jaren verschillende (pilot)onderzoeken uitgevoerd om ervaring op te doen met DNA-technieken binnen het waterbeheer (van Weeren en van der Wijngaart 2017; Bijkerk e.a. 2013; Herder en Kranenbarg 2017; van Loon, Ydenberg, en Bos 2017; de Vos van Steenwijk 2018; Timmers e.a. 2019). Gebaseerd op deze studies zijn een aantal nuttige toepassingen ontwikkeld (STOWA factsheet, Beentjes 2020). Als vervolg op de uitgevoerde pilotstudies wil STOWA een visie ontwikkelen hoe DNA-technieken in de toekomst verder kunnen bijdragen aan het waterbeheer in Nederland. Bij deze visieontwikkeling wil STOWA zo goed mogelijk aansluiten bij de vragen die momenteel spelen bij de waterbeheerders.

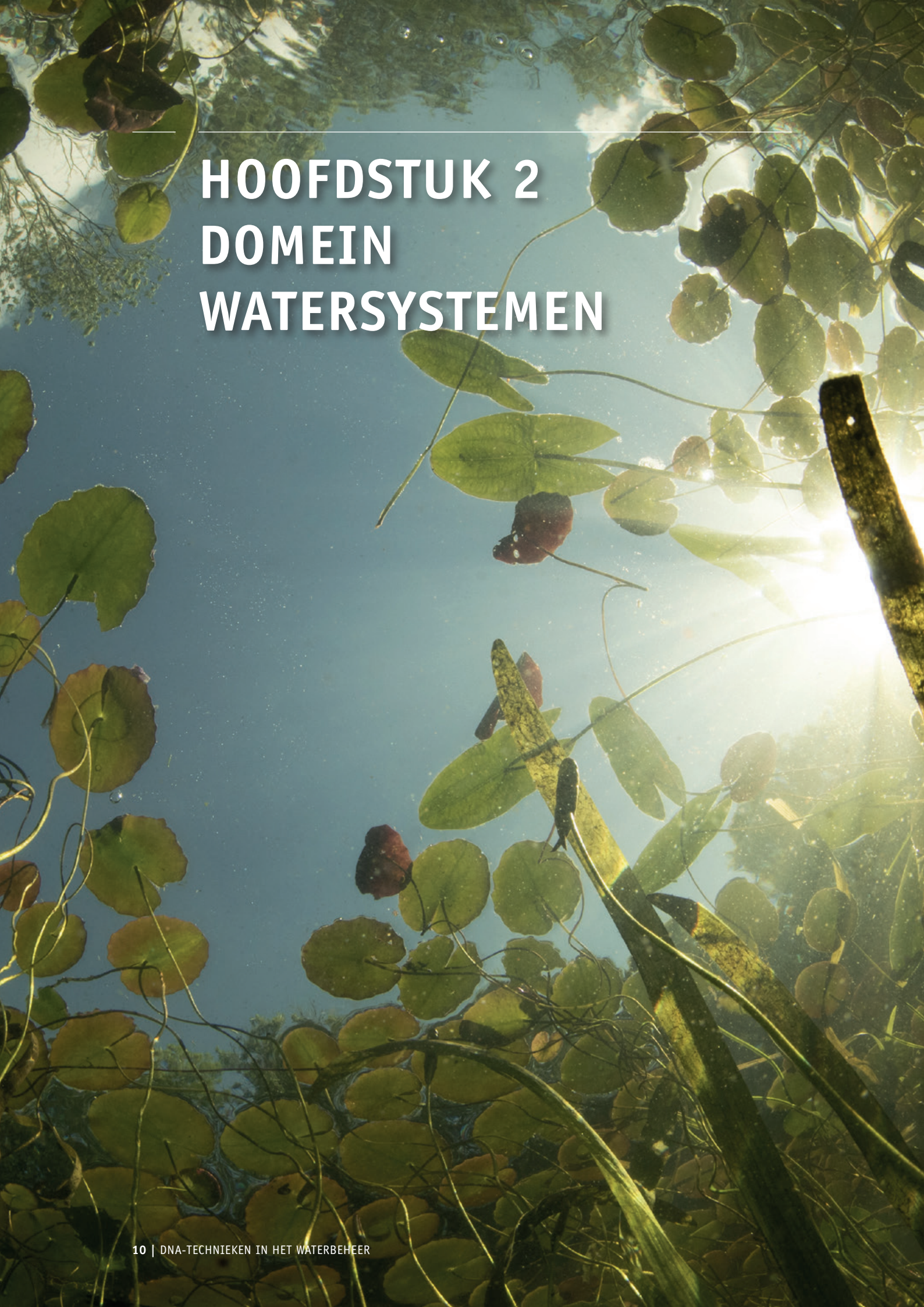
SCOPE VAN DEZE STUDIE

In opdracht van STOWA zijn de waterschappen benaderd om hun huidige ervaringen met DNA-technieken te delen en mogelijke gewenste nieuwe toepassingen te identificeren binnen de vier domeinen van de waterschappen (watersystemen, afvalwatersystemen, waterketen en waterweren). De waterschappen zijn hiervoor bevraagd via een digitale enquête en interviews (zie [bijlage 1 t/m 3](#)). Vanuit deze behoefte-inventarisatie zijn per domein relevante thema's geïdentificeerd en is verder uitgewerkt hoe het toepassen van een DNA-techniek hier specifiek aan kan bijdragen. Hierbij is per DNA-toepassing via beschikbare literatuur een inschatting gemaakt van de actuele status voor toepassing in de praktijk, variërend van '*nog beperkt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg*' (label rood) tot '*toepasbaar in de praktijk*' (label groen). Deze categorisering komt terug in de figuren van deze studie.

De vier waterbeheerdomeinen komen in de eerste vier hoofdstukken achtereenvolgens aan bod. In de uiteindelijke visieontwikkeling is gekeken wat de samenhang is tussen de verschillende thema's of er overlap is tussen de waterbeheerdomeinen en welke strategie het beste lijkt om DNA-technieken optimaal te laten bijdragen aan een verbeterd inzicht in de Nederlandse waterketen.

FACTSHEET DNA-TECHNIEKEN VOOR WATERBEHEER

Vanuit STOWA is onlangs een [factsheet \(Deltafact\)](#) ontwikkeld met een uitgebreide beschrijving van de DNA-technieken. We verwijzen naar deze factsheet voor een algemene uitleg hoe DNA-technieken werken en een beschrijving van de terminologie gebruikt rond DNA-technieken.

An underwater photograph of a pond. The water is clear and blue, with sunlight filtering through from the right, creating a bright, hazy area. Numerous green lily pads float on the surface, some with dark spots. A dark, cylindrical object, possibly a log or a piece of wood, is visible on the right side. A small, dark frog is perched on a lily pad stem in the lower right quadrant. The overall scene is serene and natural.

HOOFDSTUK 2 DOMEIN WATERSYSTEMEN

2.1

MONITORINGSWENSEN WATERBEHEERDERS

Watersysteembeheerders monitoren het oppervlaktewater om de actuele toestand en trends/processen binnen watersystemen te bepalen (zie [bijlage 1](#)). Dit inzicht moet vervolgens bijdragen aan handelingsperspectief voor het verbeteren van de watersysteemkwaliteit. Ook is de huidige monitoringsopzet (meetnetwerk en toegepaste methoden) er vooral op ingericht om te voldoen aan de Nederlandse uitwerking van de Kaderrichtlijn Water (KRW). Een voordeel van de KRW-vereisten is dat deze voorziet in een vastgesteld en gestandaardiseerd minimum voor de biologische monitoring in alle aangewezen KRW-waterlichamen voor macrofauna, fytoplankton, overige waterflora en vissen. Deze KRW-monitoring voor de toestandsbepaling vindt plaats met reguliere monitoringstechnieken, met name morfologische identificatie. Monitoring met DNA-technieken is hiervan nog geen onderdeel. De hoge kosten van de KRW-monitoring laten weinig ruimte voor aanvullende monitoring, waardoor er beperkt specifiek onderzoek kan worden gedaan naar (lokale) waterkwaliteitsvraagstukken (bijvoorbeeld voor diagnose van knelpunten in de waterkwaliteit).

Voor de toekomst zien watersysteembeheerders dan ook graag dat de kosten van de KRW-monitoring beperkt kunnen worden en er zo meer ruimte en prioriteit komt voor de door hun zelf geformuleerde monitoringsambities ([Bijlage 1](#)).

CONVENTIONELE MONITORING

De conventionele biologische monitoringstechnieken maken gebruik van bio-indicatoren (BI) (Birk e.a. 2012). Hierbij wordt ervanuit gegaan dat de aanwezigheid van een soort indicatief is voor de kwaliteit van een waterlichaam. Deze analyses worden uitgevoerd door BI soorten te determineren aan de hand van hun uiterlijke kenmerken (morfologie) en zijn sterk afhankelijk van de expertise van individuele analisten. De resultaten worden door de waterbeheerders als voldoende betrouwbaar geacht, maar de technieken zijn niet opschaalbaar, lastig verifieerbaar en variëren in kwaliteit (Haase e.a. 2010). Daarnaast heeft morfologische identificatie de beperking dat alleen soorten die morfologisch te identificeren zijn worden meegenomen, waardoor meiofauna en microbiële taxa geen deel uitmaken van de analyse. Van deze soortgroepen is bekend dat ze belangrijke bio-indicatoren kunnen zijn (Creer e.a. 2010; Payne 2013; Bouchez e.a. 2016).

Door de hoge kosten en vaak grote tijdsinspanning voor de analyse per monster (één enkel macrofauna monster kost al snel 1200 euro), geeft de conventionele monitoring momenteel maar beperkt invulling aan de totale informatiebehoefte van watersysteembeheerders. Ze hebben voornamelijk behoefte aan een hogere monitoringsfrequentie en dichter monitoringsnetwerk voor het verbeteren van hun systeemkennis en het hieruit volgende handelingsperspectief ([bijlage 1](#)). Er is dus een grote vraag naar een snellere, robuustere en kostenefficiëntere monitoring die breed kan worden ingezet. Watersysteembeheerders staan daarom over het algemeen zeer welwillend tegenover vernieuwende technieken, zoals DNA-analyses, die meer inzicht kunnen geven in het watersysteem.

DNA-technieken kunnen op verschillende manieren worden geïmplementeerd in het waterbeheer. Zo kunnen ze worden toegepast om zoveel mogelijk aan te sluiten bij de conventionele monitoring. Alternatief kunnen DNA-technieken worden ingezet om nieuwe bio-indicatoren te ontdekken of meer inzicht te geven in de processen binnen een ecosysteem.

Kalibratie tussen morfologische bio-indicatoren en DNA-technieken

In deze toepassing van DNA-analyses worden huidige BI soorten aan de hand van hun DNA gedetermineerd. Bij deze toepassing moeten DNA-technieken dus nauwgezet aansluiten bij de huidige conventionele monitoringstechnieken voor morfologische identificatie. Dit is dus alleen mogelijk voor BI soorten waarbij zowel de morfologie als de DNA-sequentie bekend is.

Het aantal specifieke BI-soorten dat kan worden geïdentificeerd aan de hand van hun DNA neemt snel toe, doordat (internationale) referentie-databases zich in hoog tempo vullen met nieuwe taxonomische groepen. Een van de grootste databases, de National Center of Biotechnology Information database (NCBI), bevatte in 2012 al meer dan 10% van de gehele biodiversiteit in de wereld (Federhen 2012). De compleetheid van de referentie-databases verschilt per soortgroep (Hering e.a. 2018). Studies waarin DNA-analyses met morfologische analyses worden vergeleken, hadden een overlap in soortdetectie tussen de 50-90% voor macrofauna (Hajibabaei e.a. 2011; Elbrecht e.a. 2017) en diatomeeën (Kermarrec *et al.* 2014; Vasselon *et al.* 2017). Daarnaast identificeerden DNA-analyses ongeveer twee keer zoveel taxa ten opzichte van de morfologische analyses voor macrofauna en vissen (Herder en Kranenbarg 2016). DNA resultaten kunnen ook worden vertaald naar ecologische kwaliteitsratio's (EKR's) voor diatomeeën (Visco e.a. 2015; Kelly e.a. 2018) en macrofauna (Aylagas e.a. 2016; Elbrecht e.a. 2017). Hierbij lijkt het niet noodzakelijk om de soortenabundantie te kwantificeren en is een EKR-score aan de hand van DNA aanwezigheid/afwezigheid in veel gevallen voldoende (Kasemier 2015; Aylagas e.a. 2016; Elbrecht e.a. 2017; K. K. Beentjes e.a. 2018).

Hoewel verschillende studies aantonen dat er overlap is tussen de conventionele monitoring en DNA-technieken, zijn er technische en biologische redenen die een volledige kalibratie onmogelijk maken. De belangrijkste is dat DNA-technieken en morfologische analyses fundamenteel verschillende eenheden analyseren. DNA-technieken analyseren moleculen, morfologische technieken analyseren individuen. Het is belangrijk om te realiseren dat het aantal DNA-moleculen van een specifieke soort niet één op één kan worden vertaald naar het aantal individuen geteld met een morfologische analysetechniek. De discrepanties worden onder andere veroorzaakt door verschillen in biomassa tussen organismen, cryptische diversiteit die met morfologische technieken niet wordt opgemerkt, de aanwezigheid van DNA van dode of inactieve organismen en de aanwezigheid van extracellulair DNA (Cordier e.a. 2020). Door dit fundamentele verschil is het onbegonnen werk om te streven naar exact dezelfde resultaten bij DNA-technieken en morfologische analyses. Het is nuttiger om de DNA-technieken te waarderen voor andere kwaliteiten zoals hun opschaalbaarheid, valideerbaarheid, reproduceerbaarheid, beperkte monitoringsinspanning en kostenefficiëntie.

DNA-analyses als basis voor de ontwikkeling van bio-indicatoren en ecosysteembeoordeling

In tegenstelling tot het inpassen van DNA-technieken in de huidige BI-systematiek, kan ook op basis van uitsluitend DNA een nieuwe BI-set worden ontwikkeld. Dit kan gedaan worden aan de hand van bijvoorbeeld "metabarcoding", waarbij een brede range van biodiversiteit wordt geana-

lyseerd binnen één DNA-monster. Deze zogenaamde community analyse geeft de mogelijkheid tot een meer holistische monitoringsaanpak waarbij ook soortgroepen als bacteriën en archaea worden meegenomen, waarvan bekend is dat zij snel en sterk reageren op veranderingen binnen een ecosysteem. Door de verdere ontwikkeling van nieuwe DNA-sequencing technieken is een metabarcoding analyse tegenwoordig eenvoudig en goedkoop uit te voeren.

DNA-community profielanalyses hebben zeer succesvol nieuwe BI's geïdentificeerd voor de aanwezigheid en hoeveelheid van pesticiden (M. S. A. Thompson e.a. 2016; Andújar e.a. 2018), eutrofiëring (Apothéloz-Perret-Gentil e.a. 2017; Martínez-Santos e.a. 2018; Li e.a. 2018; Simonin e.a. 2019; Tapolczai e.a. 2019) en andere landbouw- (Salis e.a. 2017) of afvalwatereffecten (Chonova e.a. 2019; Timmers e.a. 2019). Deze studies tonen de kracht aan van deze community-analyses en hun potentie om toegepast te worden in het waterbeheer. Bij deze studies wordt gebruik gemaakt van statistische analyses, die de relatie leggen tussen de soortensamenstelling en de mate van verstoring (Dufrière en Legendre 1997). De verdere ontwikkeling van statistische analysetechnieken zullen het vertalen van DNA-community analyses naar een kwaliteitsbeoordeling verder versterken en vereenvoudigen (Cordier e.a. 2019). DNA community-analyses kunnen voor een accuratere bepaling van de ecologische status zorgen doordat van een groter aantal BI's gebruik gemaakt wordt in vergelijking met conventionele monitoring (Cordier e.a. 2018).

In het STOWA-project "Toepassing eDNA voedselweb-analyses" wordt momenteel onderzocht hoe DNA-metabarcoding analyses kunnen bijdragen aan een verbeterd inzicht in Nederlandse aquatische ecosystemen (STOWA 2017; Schep 2019). Hierbij worden nieuwe BI's geïdentificeerd voor zowel vissen, algen, zoöplankton en bacteriën. Het doel van dit project is om de interpretatie van deze analyses te verbeteren en uiteindelijk tot een gestandaardiseerde methode te komen voor grootschalige inzet.

DNA-analyses voor functionaliteit in plaats van biodiversiteit

Een andere manier om de ecologische kwaliteit van een watersysteem te bepalen is om te kijken naar functionele genen. Simpel gezegd kijk je hierbij niet naar "wie of welke soort is er aanwezig?" maar "wat kunnen/doen ze?". DNA-technieken kunnen naast het identificeren van soorten ook worden ingezet voor het bepalen van de aanwezige functionele genen die betrokken zijn bij metabole processen. Processen als bijvoorbeeld denitrificatie kunnen hiermee gedetailleerder in kaart worden gebracht en ook weer worden gelinkt aan de aanwezige soortensamenstelling binnen een waterlichaam (Veraart e.a. 2017). Binnen een ecosysteem veranderen de metabole capaciteiten soms sneller dan de soortensamenstelling, waardoor het monitoren van functionele genen een mogelijk betere "early warning" kunnen geven bij plotselinge veranderingen in het milieu. Dit soort metagenomic studies kunnen de impact van specifieke vervuilingstromen in het oppervlaktewater bepalen (Cheaib e.a. 2018; Falk e.a. 2019).

Hoewel metagenomics steeds vaker wordt ingezet voor onderzoek, lijkt deze techniek nog niet direct toepasbaar voor routinematige monitoring van het oppervlaktewater. Dit komt doordat deze techniek nog sterk in ontwikkeling is en dat alternatieve analyses als proteomics mogelijk nog beter inzicht geven in de metabole capaciteit en activiteit in het oppervlaktewater. De resultaten die metagenomic-analyses leveren zijn zeer betrouwbaar, maar de interpretatie van dit soort analyses zal nog verder moeten worden ontwikkeld en gestandaardiseerd. Metagenomics en andere metabolische analysetechnieken zijn nu al inzetbaar om aanvullende informatie te krijgen over het functioneren van een watersysteem.

2.3

ZIEKTEVERWEKKERS IDENTIFICEREN IN HET OPPERVLAKTEWATER

In Nederland wordt tijdens het zwemseizoen twee wekelijks gemonitord op de aanwezigheid van fecale bacteriën *Escherichia coli* (*E. coli*), intestinale enterococci en blauwalgen, omdat deze een gezondheidsrisico vormen/signaleren voor zwemmers. Met de huidige meetmethoden kan slechts beperkt een actueel beeld worden gegeven van de zwemwaterkwaliteit omdat de analyseresultaten vaak meerdere dagen op zich laten wachten. Ook wordt met de huidige methoden maar beperkt inzicht verkregen wat de bron is van de verslechterde waterkwaliteit.

Via DNA-analyses met specifieke DNA-merkers, gericht op met name de *Bacteroides* bacteriën, kan de herkomst van *E. coli* en enterococci worden gerelateerd aan specifieke diergroepen. Zo kan er onderscheid gemaakt worden tussen mensen, runderen en andere herkauwers, paarden, varkens vogels, en honden (Heijnen e.a. 2014; Kardinaal 2017). In een vergelijkend onderzoek naar nieuwe methoden voor het inschatten van blauwalgen toxine risico's voor zwemmers, kwam het analyseren van het aantal aanwezige toxine genen als een van de betere methoden naar voren (Sollie en Kardinaal 2020). Voordelen voor het toepassen van een DNA-analyse waren dat deze tegen relatief beperkte kosten kunnen worden uitgevoerd en dat ook andere DNA-analyses met hetzelfde monster kunnen worden uitgevoerd (analyseren van zowel *E. coli* en enterococci). Ook kunnen DNA-technieken worden ingezet om ziekteverwekkers als zwemmersjeuk (Wanink en Wolters 2013; de Lange, Bijkerk, en de Groot 2017), en de ziekte van Weil op te sporen (Becker e.a. 2017). Momenteel lopen pilotstudies (medio 2020, KWR) om de DNA-analyses zelf op locatie uit te voeren. Zo kan een zeer actueel beeld worden gegeven wat de huidige status is van de zwemwaterkwaliteit, wat essentieel is om een veilig zwemadvies van dag tot dag te kunnen geven.

2.4

IMPLEMENTATIE VAN DNA-TECHNIEKEN IN REGULIERE MONITORINGPROGRAMMA'S

Ecosysteemmonitoring

Veel actuele vragen van watersysteembeheerders kunnen onvoldoende worden beantwoord met de huidige monitoringsopzet door methodologische beperkingen en kosten. DNA-technieken kunnen voor veel van deze vragen een oplossing bieden door meer, sneller en goedkoper gevraagde informatie te leveren (figuur 2.1). Wel leveren DNA-technieken een ander type informatie over een ecosysteem dan tot dusver met de conventionele monitoringsmethoden wordt verkregen. De inzet van DNA-technieken vraagt dus niet zozeer om een verdere technische ontwikkeling maar om een nieuwe manier van ecosysteem-analyse.

DNA-technieken kunnen het monitoren van de huidige standaard BI's vereenvoudigen. Door de uitbreiding van beschikbare referentiedatabases kunnen DNA-analyses steeds beter de met morfologie geïdentificeerde BI's analyseren. Hiermee kunnen DNA-technieken richting de toekomst als een steeds betrouwbaarder alternatief worden ingezet voor het bepalen van deze huidige BI's. Echter, door fundamentele verschillen tussen de technieken zullen er altijd verschillen zijn in de uitkomsten. Het kalibreren van DNA-technieken met morfologische methoden zou daarom maar zeer beperkt gebruik maken van de voordelen van DNA-technieken en dus maar beperkt prioriteit moeten krijgen.

Een betere manier om DNA-technieken toe te passen voor het beoordelen van de ecologische toestand en processen is om de DNA-informatie zelf als uitgangspunt te nemen. Hierbij wordt op basis van DNA-analyses een uitgebreide BI-set ontwikkeld, waarbij volledig gebruik wordt gemaakt van de soortensamenstelling in de DNA-data. DNA-metabarcoding kan tegenwoordig eenvoudig en kostenefficiënt worden uitgevoerd. Wel zal er geïnvesteerd moeten worden in het kalibreren

tussen DNA-data en vervuiling gradiënten of ecologische kwaliteit om tot beoordelingen te komen. De keuze voor deze aanpak sluit goed aan bij de vraag naar een meer holistische analyse van het watersysteem. Ook biedt deze strategie de mogelijkheid om de monitoringsfrequentie en -locaties kostenefficiënt uit te breiden.

Naast soortenidentificatie kunnen DNA-technieken ook worden gebruikt voor het identificeren van functionele genen in aquatische ecosystemen. Het beoordelen van de ecologische kwaliteit aan de hand van functionele genen wordt in onderzoek steeds vaker toegepast. Deze techniek moet echter nog verder worden ontwikkeld om routinematig te worden ingezet. Ook zijn er alternatieve technieken als proteomics, het bestuderen van eiwitten en hun biologische functie, die mogelijk beter toepasbaar zijn om de processen in een ecosysteem in kaart te brengen. Toch is het toepassen van deze technieken in bijvoorbeeld pilotstudies nu al zeer nuttig omdat hiermee aanvullende informatie kan worden gegenereerd om bijvoorbeeld metabarcoding analyses beter te interpreteren.

Tot dusver zijn DNA-technieken voornamelijk toegepast binnen pilotstudies. Bij deze pilots zijn veel verschillende protocollen gebruikt voor het opwerken, sequensen en analyseren van de data, waardoor de resultaten beperkt vergelijkbaar zijn tussen studies. Doordat bij deze pilotstudies maar een beperkt aantal monsters is genomen waren de kosten per monster vrij hoog. Hierdoor is de belofte dat DNA-analyses veel kostenefficiënter kunnen worden uitgevoerd nog niet ingelost. Voor een betrouwbare en kostenefficiënte inzet is het daarom belangrijk om een universele standaard af te spreken. Voor het toepassen van DNA-analyses zijn al verschillende standaarden ontwikkeld als de MIGS, MIMARKS en MixS (Field e.a. 2008; Yilmaz e.a. 2011). Er lopen momenteel al Europese initiatieven voor het ontwikkelen van een standaard voor het toepassen van DNA-analyses voor de watersysteem monitoring (DNAqua-Net). Het is sterk aan te bevelen om hierbij aan te sluiten voor de Nederlandse methodeontwikkeling. Zo kan de focus worden verlegd van DNA-methodeontwikkeling naar data interpretatie.

Ziekteverwekkers

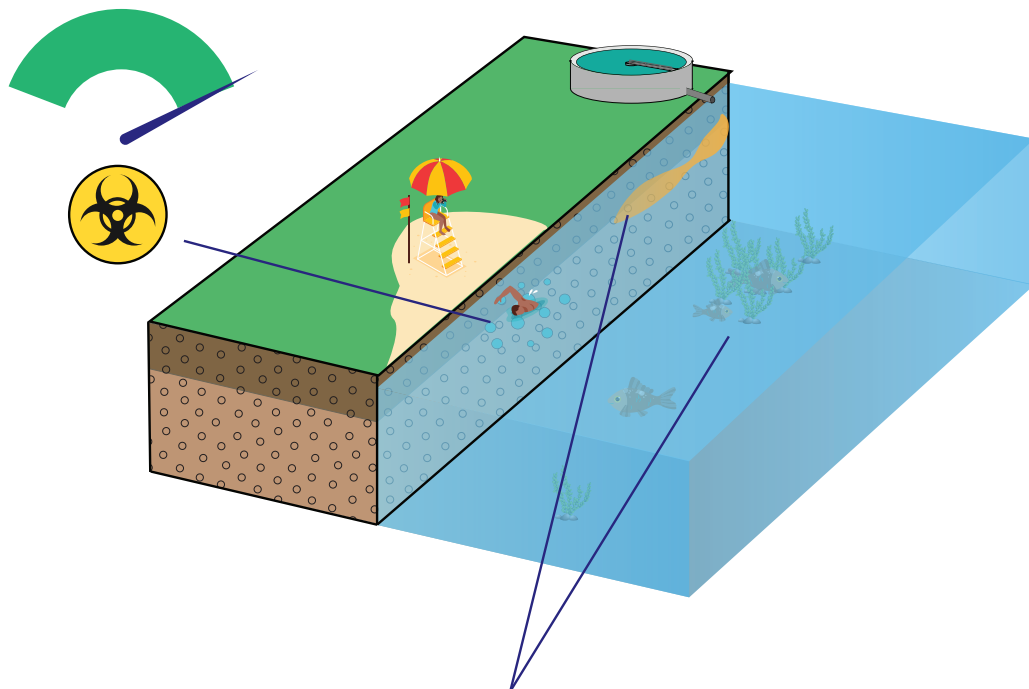
DNA-analyses blijken effectieve methoden voor het analyseren van fecale bacteriën, blauwalgentoxines en andere ziekteverwekkers in het oppervlaktewater. Momenteel zijn deze DNA-analyses nog geen onderdeel van de standaard monitoring voor het bepalen van de waterkwaliteit op zwemlocaties, al zijn veel van deze methoden er al klaar voor om routinematig te worden ingezet.

Het uitvoeren van deze DNA-analyses van monsternamen tot uitslag duurt nu nog 1-2 dagen. Deze tijd van monsternamen tot resultaat kan verder verkort worden tot een paar uur, hier worden momenteel pilotstudies naar uitgevoerd. DNA-technieken kunnen zo bijdragen aan een veel actueler beeld van de zwemwaterkwaliteit ten opzichte van de huidige conventionele technieken. Dit is van groot belang voor het voorkomen van gezondheidsrisico's op zwemwaterlocaties en evenementen zoals city-swims.

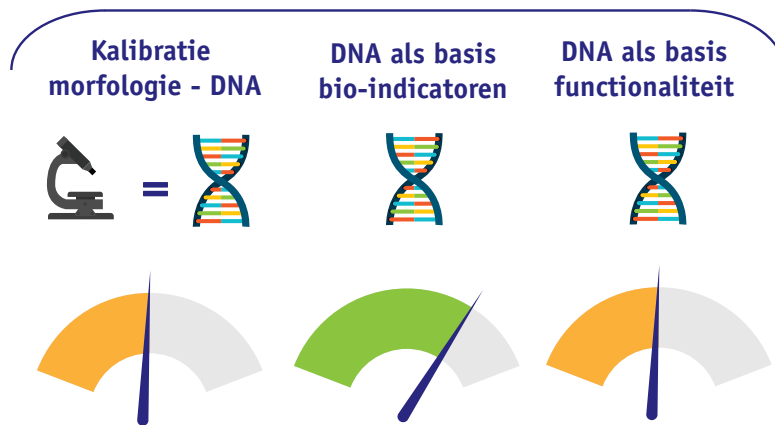
FIG 2.1 DNA-TOEPASSINGEN IN HET WATERSYSTEEMBEHEER

DNA-technieken kunnen worden ingezet voor: 1. zwembadwaterkwaliteitsbeoordelingen, 2. ecosysteem en ecologische impact beoordelingen. Voor iedere toepassing is een indicatormeter die aangeeft in welk stadium van ontwikkeling deze toepassing zich bevindt. Rood (nog beperkt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), oranje (toepassing wordt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), licht groen (toepassing wordt uitgetest in pilotstudies, een kleine stap is noodzakelijk voor toepassing in de praktijk), groen (toepasbaar in de praktijk).

1. ZWEMWATERKWALITEITSBEOORDELING



2. ECOSYSTEEM EN ECOLOGISCHE IMPACT BEOORDELING



HOOFDSTUK 3

DOMEIN

AFVALWATERSYSTEMEN



3.1

MONITORINGSWENSEN AFVALWATERSYSTEEMBEHEERDERS

Beheerders van afvalwatersystemen zijn verantwoordelijk voor het optimaal laten verlopen van het zuiveringsproces op de zuiveringsinstallaties die zij beheren. Hiervoor wordt in eerste instantie ingezet op het verwijderen van organisch materiaal en nutriënten als stikstof (N) en fosfaat (P). Ook is er toenemende aandacht voor het verwijderen van microverontreinigingen als bestrijdingsmiddelen en medicijnresten. Het afbraak- en verwijderingsproces is voor een groot gedeelte afhankelijk van de microbiële samenstelling en activiteit in het slib en overige zuiveringsstappen in de rwzi.

Aanvullende monitoring zoals DNA-analyses zou er volgens afvalwaterzuiveraars in eerste instantie aan moeten bijdragen om handelingsperspectief te bieden voor het verbeteren van het zuiveringsproces (zie [bijlage 2](#)). Hierin verschilt de vraag van de waterzuiveraars ten opzichte van bijvoorbeeld watersysteembeheerders, met focus op het in kaart brengen van processen in plaats van biodiversiteit als maat van het biologisch functioneren van een systeem. Toch hebben beiden een gedeelde missie dat uiteindelijk het oppervlaktewater aan de kwaliteitseisen voldoet om tot een goede ecologische toestand te komen.

Doordat DNA-technieken voor afvalwaterzuiveringsbeheerders hoofdzakelijk aanvullende inzichten bieden en maar beperkt een alternatief zijn voor de huidige rwzi-monitoring, richt onze visieontwikkeling voor afvalwaterbeheerders zich vooral op de meerwaarde van de verschillende DNA-toepassingen.

3.2

DNA-ANALYSES EN ZUIVERINGSRENDEMENTEN

Het zuiveringsproces op rwzi's is voor een groot deel een microbiologisch proces waarbij nitrificerders als ammonia oxiderende bacteriën (AOB's), nitriet oxiderende bacteriën (NOB's) en denitrificerders stikstof verwijderen, en fosfaat-accumulerende organismen (PAO's) fosfaat verwijderen. Om het rwzi ontwerpproces te versimpelen wordt er voornamelijk rekening gehouden met de chemische en fysische processen als maat voor de uiteindelijke biologische afbraakcapaciteit (Purohit e.a. 2016). Operators kunnen via (online) parameters als pH, O₂, NH₄⁺ NO₃⁻, redox, etc., het actuele biologische proces volgen en zo nodig bijsturen. Het dagelijks beheer van de installatie gebeurt op basis van deze monitoringsmethodiek en is voldoende om de primaire processen van organisch materiaal afbraak, nitrificatie, denitrificatie, CZV en fosfaatverwijdering te sturen.

De huidige rwzi-parameters kennen ook beperkingen, vooral als er onderliggende biologische processen zijn die hieraan ten grondslag liggen. Een verandering van populatie, slibkwaliteit of de impact van een rioolvreemde stof wordt nu wel gesignaleerd in het rendement van het zuiveringsproces, maar de onderliggende oorzaak kan vaak niet worden achterhaald. Rwzi-operators worden soms geconfronteerd met het plotseling wegvallen van nitrificatie (Tang and Chen 2015, Kroiss *et al.* 1992, Nielsen *et al.* 2009a) en het ontwikkelen van schuim en drijfslagen (Nielsen 2009b, Pujol *et al.* 1991). Bij deze problematiek kan een uitgebreider inzicht in de microbiële populatie mogelijk bijdragen de oorzaak te achterhalen en het zuiveringsrendement te optimaliseren.

Uit de enquête (zie [bijlage 2](#)) bleek dat waterzuiveringsbeheerders graag meer inzicht krijgen in de volgende onderwerpen:

- Het verloop van de kwalitatieve slibsamenstelling.
- Verschillen in verwijderingsrendementen van microverontreinigingen gerelateerd aan de microbiële samenstelling.

-
- De voorspellende waarde van veranderingen in de populatiesamenstelling voor het optimaliseren van het zuiveringsproces op de lange termijn.
 - De invloed van de populatiesamenstelling voor de productie van lachgas (N₂O).
 - Impact van rioolvreemde stoffen op de populatiesamenstelling en het zuiveringsproces.

DNA-community analyses geven ons de mogelijkheid om de biologische diversiteit van rwzi's minutieus in kaart te brengen. Een community-analyse van geactiveerd slib resulteert in gemiddeld 104 unieke sequenties, onderverdeeld over 30 verschillende phyla en ~10² genera (Xia e.a. 2018). Deze populatie kan vervolgens worden verdeeld in de verschillende functionele groepen (als nitrificeerders, AOB's, NOB's, PAO's en draadvormers). Om informatie over microbiële diversiteit en samenstelling in te kunnen zetten voor het beter begrijpen van het rwzi-zuiveringsproces en verder te optimaliseren, is het cruciaal dat de relatie kan worden gelegd tussen microbiële samenstelling en de zuiveringsprocessen. In onderzoekopstellingen worden deze relaties al veelvuldig aangetoond. Zo kan de abundantie van koolstof- en stikstof afbraakgenen worden gerelateerd aan het rendement voor het afbreken van organisch materiaal en stikstof (Xia *et al.* 2014) en is de microbiële samenstelling te relateren aan fenol verwijdering (Rosenkranz *et al.* 2013). Verder zijn er indicaties dat actief slib met een hogere microbiële diversiteit beter opgewassen is tegen een verstoring met een rioolvreemde stof (Saikaly en Oether 2011). Een hogere microbiële diversiteit is ook positief gecorreleerd met een hogere metabolische diversiteit (Yang *et al.* 2011), wat mogelijk bijdraagt aan de afbraak van een grotere verscheidenheid van moleculen als bijvoorbeeld microverontreinigingen.

Op rwzi schaal zijn verschillende (verkenkende) studies uitgevoerd om een relatie te leggen tussen het zuiveringsproces en de bacteriële samenstelling. Bij onderzoek naar biologische fosfaatverwijdering zijn DNA-technieken succesvol ingezet om fosfaat verwijderende bacteriën te identificeren en kwantificeren (Heijnen, Kraan, en Janssen 2015). Hierbij is een relatie gevonden tussen de aantallen fosfaat accumulerende organismen (PAO's) en fosfaatafgifte in het zuiveringsslib. Echter, DNA-studies leiden niet altijd tot een duidelijke conclusie over de ontwikkeling van het zuiveringsproces. In een vergelijkende studie tussen de rwzi's van Nieuwe Wetering en Nieuwveen, waarbij op één locatie een nieuwe zuiveringstechniek werd toegepast, konden geen duidelijke conclusies worden getrokken over de ontwikkeling van PAO's. Ook kon er maar beperkt inzicht worden verkregen in de ontwikkeling van draadvormers in deze rwzi's (Timmers *et al.* 2019). Een belangrijke conclusie uit deze studie is dat op het schaalniveau van een rwzi er veel processen tegelijk verlopen die onvoldoende worden gemonitord met de huidige technieken. Hierdoor kan bij een kleine DNA-monstername in combinatie met beperkte metingen van zuiveringsparameters (zuiveringsrendementen etc.) maar zeer beperkt een relatie worden gelegd tussen de invloed van de microbiële samenstelling op het zuiveringsproces. Ook is het belangrijk te beseffen dat een DNA-analyse inzicht geeft in biodiversiteit en metabole capaciteit, waardoor deze dus alleen indirect inzicht geeft in de metabole activiteit binnen een rwzi. Zo kunnen DNA-analyses geen onderscheid maken welk deel van de microbiële populatie ook daadwerkelijk actief is (Franklin en Mills 2006). Mogelijk is een groot gedeelte van de community helemaal niet actief, wat de verklaring kan zijn waarom sommige afbraakprocessen niet plaatsvinden ondanks dat de DNA-analyse wel de potentie hiervoor aantoonde. Ook kan het voorkomen dat de populatie niet in omvang verandert, maar wel varieert in metabole activiteit (K. Yu en Zhang 2012), waardoor er alsnog fluctuaties kunnen zijn in het zuiveringsproces. Daarom lijken aanvullende analyses als transcriptomics of proteomics, die een directer beeld geven van de actuele metabole activiteit (zie ook uitleg 2.2.3), noodzakelijk te zijn om de bacteriële samenstelling/activiteit te relateren aan rwzi zuiveringsrendementen.

3.3

VAN RWZI NAAR HET MILIEU

Het uiteindelijke doel van het optimaliseren van deze zuiveringsprocessen is het verminderen van de impact van het effluent op het oppervlaktewater. Doordat de rwzi zelf ook een ecosysteem is dat in verbinding staat met het oppervlaktewater is het van belang om te weten in hoeverre de microbiële samenstelling van de rwzi wordt overgedragen naar het oppervlaktewater. Verder zijn effluentlozingen ook van invloed op de biologische waterkwaliteit en de processen in het ontvangende oppervlaktewater. DNA-technieken geven de mogelijkheid om met één integrale methoden de biodiversiteit binnen rwzi's en aanliggende watersystemen te analyseren.

Oppervlaktewater DNA-community profielen langs een gradiënt van rwzi effluent geven inzicht in hoever de invloed van een rwzi benedenstrooms rijkt en impact heeft op de biodiversiteit en processen in het oppervlaktewater (Martinez-Santos *et al.* 2018; Timmers *et al.* 2019; Chonova *et al.* 2019). Martinez-Santos *et al.* (2018) laten zien dat het effluent ook van grote invloed is op de processen die plaatsvinden in het benedenstroomse ecosysteem, door het potentieel veroorzaken van een verhoogde N₂O emissie benedenstrooms. N₂O is een zeer krachtig broeikasgas wat bijdraagt aan de opwarming van de aarde.

Naast de impact van rwzi's op oppervlaktewater kan afvalwater door lekkages van de installatie ook in het grondwater terecht komen. In een pilotstudie uitgevoerd door KWR (Timmers *et al.* 2019) wordt aangetoond dat DNA-technieken de vervuiling van het grondwater vanuit een rwzi aantonen, ondanks dat andere parameters als ammoniumconcentraties en chemisch zuurstofverbruik geen indicatie opleveren voor een lekkage naar het grondwater. Een DNA-analyse kan dus als "early-warning" dienen voor het detecteren van een lekkage. Deze voorbeelden laten zien dat DNA-technieken al kunnen worden ingezet om inzicht te krijgen wat de impact is van een rwzi op het omliggende milieu.

3.4

GEZONDHEIDSRISICO'S

Naast de relatie met zuiveringsrendementen zijn er ook andere biologische componenten in de waterzuivering van belang, waar met DNA-technieken op kan worden gemonitord. Rwzi's leveren een belangrijke bijdrage aan het voorkomen van gezondheidsrisico's doordat schadelijke stoffen uit het water zijn gezuiverd en zo niet op bijvoorbeeld zwemlocaties terecht komen. Toch kunnen rwzi's zelf een bron van gezondheidsrisico's zijn, bijvoorbeeld door de ontwikkeling van antibioticaresistentie en *Legionella* binnen de zuivering (Schmitt *et al.* 2017; de Vos van Steenwijk *et al.* 2017) (Bartels e.a. 2019; Vermeulen e.a. 2019).

Via het afvalwater van ziekenhuizen en huishoudens komen antibioticaresistente bacteriën in de waterketen terecht die deze resistentie weer kunnen overdragen op rwzi-bacteriën. Het merendeel van de rwzi-bacteriën is geen direct gezondheidsrisico omdat zij zelf niet ziekmakend zijn. Toch is het ongewenst dat antibioticaresistentie zich ontwikkelt in rwzi's omdat bacteriën gemakkelijk deze resistentie kunnen overdragen op ziekmakende bacteriën als *Legionella*. Ook is het ongewenst dat mensen zelf worden blootgesteld aan antibioticaresistentie. DNA-analyses zijn een zeer effectieve methode om antibioticaresistentie op te sporen en zelfs onderscheid te maken voor welke specifieke antibiotica resistentie is opgebouwd. Uit Nederlands onderzoek blijkt dat op een groot gedeelte van de rwzi's antibioticaresistentie wordt aangetroffen (Schmitt *et al.* 2017; de Vos van Steenwijk *et al.* 2017).

Rwzi's kunnen ook een bron van legionella besmettingen zijn, doordat deze bacteriën zich vanuit de rwzi in de lucht verspreiden (Bartels e.a. 2019; Vermeulen e.a. 2019). Via DNA-onderzoek kon de rwzi als bron worden geïdentificeerd voor besmettingen.

3.5 IMPLEMENTATIE VAN DNA-TECHNIEKEN IN REGULIERE MONITORINGPROGRAMMA'S

Functioneren zuiveringssysteem

Binnen een experimentele opzet geven DNA-technieken nieuwe inzichten in het zuiveringsproces door het in kaart brengen van variaties in de microbiële samenstelling en hun metabolische potentieel. Daarmee kunnen DNA-technieken een belangrijke toevoeging zijn voor het begrijpen en optimaliseren van het zuiveringsproces op rwzi's. Op het schaalniveau van een operationele rwzi heeft het toepassen van DNA-analyses tot dusver beperkt succes opgeleverd om aanvullend inzicht te krijgen in het zuiveringsproces (figuur 3.1). Dit heeft er onder andere mee te maken dat op een rwzi het zuiveringsproces minder gecontroleerd verloopt en variaties in het zuiveringsrendement vaak meerdere oorzaken kunnen hebben. Daarom kan de verklarende potentie van deze techniek nog niet volledig in de praktijk worden benut.

Om de rwzi DNA-analyse resultaten beter te kunnen interpreteren lijkt een tussenstap daarom nog noodzakelijk. Zo kunnen DNA-analyses worden uitgevoerd binnen een experimentele opzet op rwzi schaal, waarbij ook een zeer uitgebreide monitoring van andere relevante parameters plaatsvindt. Daarnaast kan een uitgebreide set aan DNA-monsters in deze experimenten bijdragen als basis voor het beter interpreteren van DNA-resultaten op andere rwzi's. DNA-technieken kunnen ook worden toegepast in combinatie met andere moleculaire technieken als RNA- en proteomics-analyses, die een directer inzicht geven in de zuiveringsactiviteit van de microbiële community (Hansen *et al.* 2014). Proteomics en RNA-analyses zijn momenteel nog maar zeer beperkt toegepast voor het verbinden van metabole activiteit t.o.v. zuiveringsrendementen. Dit heeft er voornamelijk mee te maken dat er momenteel nog onvoldoende DNA-referentiedatabases zijn waarmee betrouwbaar de enzymen en eiwitten, die met RNA-analyses en proteomics worden geanalyseerd, kunnen worden geïdentificeerd.

Effluent en milieu

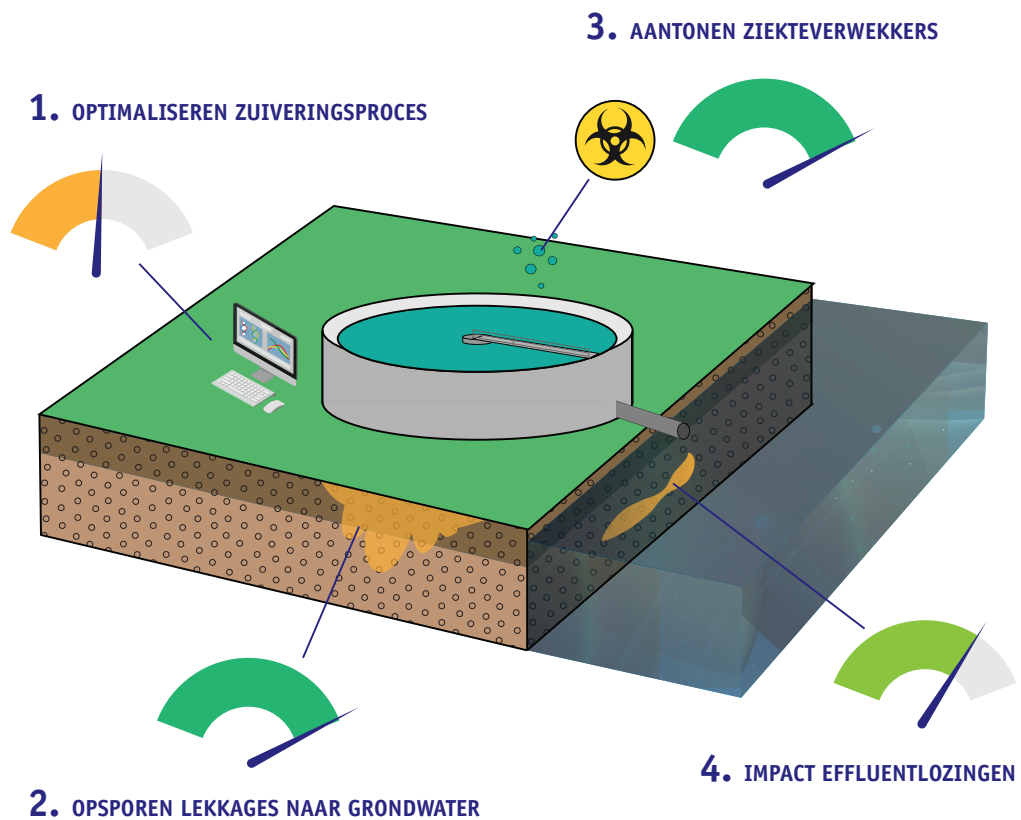
Het toepassen van DNA-technieken voor het bepalen van de rwzi-impact op het milieu is nu al zeer succesvol. In het oppervlaktewater kan bepaald worden hoe ver de rwzi-community zich benedenstrooms verspreidt en of het effluent invloed heeft op processen in het oppervlaktewater. Ook kunnen DNA-technieken eerder een lekkage naar het grondwater aantonen dan andere meetmethoden. Doordat DNA-technieken ook kansen bieden voor de oppervlaktewatermonitoring, biedt dit de mogelijkheid rwzi-monitoring en oppervlaktewatermonitoring met elkaar te verbinden middels een gedeelde biologische monitoringstechniek. Dit biedt kansen om in de routinematige monitoring de impact van rwzi's op het milieu te integreren. Hierbij kan er ook op zoek worden gegaan naar gedeelde bio-indicatorsoorten, die indicatief zijn voor de impact van de rwzi op oppervlaktewaterecologie.

Gezondheidsrisico's

DNA-technieken leveren nieuwe inzichten in mogelijke gezondheidsrisico's rond rwzi's, door het aantonen van pathogenen en antibioticaresistentie. Het routinematig inzetten van DNA-technieken biedt de mogelijkheid deze risico's continue te monitoren en inzicht te geven wanneer ingrijpen gewenst is.

FIG 3.1 DNA-TOEPASSINGEN IN HET AFVALWATERSYSTEEMBEHEER

DNA-technieken kunnen worden ingezet voor: 1. het optimaliseren van het zuiveringsproces, 2. opsporen van lekkages naar het grondwater, 3. aantonen van ziekteverwekkers, 4. het in kaart brengen van de impact van effluentlozingen op het oppervlaktewater. Voor iedere toepassing is een indicatormeter die aangeeft in welk stadium van ontwikkeling deze toepassing zich bevindt. Rood (nog beperkt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), oranje (toepassing wordt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), licht groen (toepassing wordt uitgetest in pilotstudies, een kleine stap is noodzakelijk voor toepassing in de praktijk), groen (toepasbaar in de praktijk).



HOOFDSTUK 4

DOMEIN WATERKETEN



4.1 MONITORINGSWENSEN WATERKETENBEHEERDERS

Waterketenbeheerders beschouwen de gehele waterketen: van waterwinnen voor drinkwaterproductie, het gebruik (door industrie, huishoudens) en het uiteindelijk lozen van gezuiverd afvalwater in het milieu. Hierbij waken zij ervoor dat het gebruik van het water verderop in de waterketen niet tot onmogelijke opgaven leidt op het gebied van waterkwaliteit. Ook beoordelen zij of de afvalwaterketenfaciliteiten als het rioolsysteem en waterzuivering nog voldoen om deze taken te faciliteren. Hierbij is het van groot belang dat waterketenbeheerders een goed beeld krijgen van de afvalwaterstromen die uiteindelijk moeten worden geloosd.

Vragen waar de waterketenbeheerders meer inzicht in willen krijgen via DNA-technieken liggen vooral op het gebied van de ruwe afvalwater aanvoer (influent). Graag krijgen zij meer inzicht of ziekteverwekkers via het ruwe afvalwater naar de rwzi's worden gevoerd (bijlage 3). Verder zouden DNA-technieken ook kunnen bijdragen aan het detecteren van foutaansluitingen of illegale lozingen van bijvoorbeeld biologisch materiaal (slachtafval) of zuivering verstorende stoffen. Ook wordt er gevraagd of DNA-technieken inzicht kunnen geven in de impact van een overstort op het oppervlaktewater en of de kwaliteit van effluent in kaart kan worden gebracht met het oog op hergebruik voor andere doeleinden. Een aantal van deze doelstellingen overlappen met die van de afvalwaterzuivering en oppervlaktewaterbeheerders. Op deze onderwerpen kan het inzetten van gedeelde technieken zoals bijvoorbeeld een DNA-analyse dus een gedeeld instrument zijn.

4.2 DNA-ANALYSE VOOR RIOOLSTELSELBEHEER

Ruw afvalwater of rioolwater heeft verschillende componenten waar DNA-analyses meer inzicht in kunnen geven. In het riool zelf wordt het afvalwater al voor een gedeelte afgebroken door de aanwezige bacteriën. Binnen een rioolsysteem is de bacteriële samenstelling op te delen tussen de bacteriën in het afvalwater zelf en de bacteriën die een laag (biofilm) vormen op de rioolbuizen (Jensen e.a. 2016). De samenstelling van de biofilm bacteriën is sterk te relateren aan de biochemische processen die plaats vinden in het riool, zo dragen ze bij aan de aerobe afbraak van organisch materiaal (Hvitved-Jacobsen, Vollertsen, en Matos 2002). Verder heeft de bacteriële biofilm ook een grote invloed op de zwavel cyclus binnen het riool, door onder andere de productie van zwavelzuur, waardoor betonnen rioolbuizen met millimeters per jaar kunnen corroderen. Via DNA-analyses is aangetoond dat een specifieke bacteriële samenstelling voorkomt op de meest gecorrodeerde plaatsen van rioolbuizen (Vincke, Boon, en Verstraete 2001). Hiermee geeft een DNA-analyse dus aanvullend inzicht in de staat van het rioolstelsel en of lekkages op termijn te verwachten zijn.

4.3 DNA-ANALYSE VOOR HET IDENTIFICEREN VAN GEZONDHEIDSRISICO'S

De samenstelling van het afvalwater is een afspiegeling van de maatschappij die het produceert. Naast de afvalstromen van industrie of het gebruik in het huishouden bestaat een belangrijk deel van het afvalwater uit menselijke ontlasting. Met DNA-technieken kan er inzicht worden verkregen in de volksgezondheid, wat voor levensstijl wordt aangehouden en hoe epidemieën zich ontwikkelen. Bij infectieziekten die zich onder de bevolking verspreiden worden pathogenen uitgescheiden via menselijk vocht of uitwerpselen en komen deze dus uiteindelijk ook in het afvalwater terecht. Met DNA-studies is aangetoond dat zelfs wanneer slechts een klein percentage van de populatie geïnfecteerd is dit kan worden gedetecteerd (Sinclair e.a. 2008), voor zowel pathogene bacteriën als ook virussen (Gilbride, Lee, en Beaudette 2006; de Vos van Steenwijk e.a. 2017). Ook coronavirussen, die Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) kunnen veroorzaken, worden aangetroffen in lichaamsvocht en uitwerpselen (Louie e.a. 2006). Onderzoek van het RIVM en KWR hebben ten tijde van de 2020 coronavirus pandemie het virus aangetroffen

in het rioolwater van verschillende Nederlandse steden (onder andere Amsterdam en Tilburg) (RIVM 2020). Deze toepassing wordt als zeer belangrijk gezien om de ontwikkeling van het virus in Nederland te kunnen volgen, waardoor de analyses zijn uitgebreid tot meer dan 300 locaties. Hiermee wordt in de praktijk ook aangetoond dat DNA-studies eenvoudig kunnen worden opgeschaald wanneer hier een noodzaak voor is.

Een analyse van bacterieel DNA afkomstig van het afvalwater in de Harnaschpolder (Delft) liet zien dat deze gedomineerd werd door de fecale bacteriën *Escherichia coli* (E. coli), *Bacteroides* spp. en Enterobacteriaceae (de Vos van Steenwijk e.a. 2017). Deze bacteriën komen van nature voor in uitwerpselen van mens en dier en zijn over het algemeen niet schadelijk. Wel is de aanwezigheid van deze bacteriën in het oppervlaktewater indicatief dat er pathogenen aanwezig kunnen zijn. Via de DNA-analyse konden vervolgens ook pathogene bacteriën zoals *Acrobacter butzleri*, *Klebsiella pneumoniae* en *Acinetobacter baumannii* worden geïdentificeerd (de Vos van Steenwijk e.a. 2017). Het aantal aanwezige pathogene bacteriën nam af nadat het water was gezuiverd op de rwzi.

Naast pathogenen kan ook antibioticaresistentie zich via het afvalwater verspreiden (zie ook [paragraaf 4.4](#)) en uiteindelijk ook het oppervlaktewater bereiken. Deze antibioticaresistentie is opgebouwd bij bacteriën vanuit het ziekenhuis of huishoudens en kan vervolgens weer worden overgedragen op bacteriën in de waterketen. DNA-analyses zijn een zeer effectieve methode om antibioticaresistentie op te sporen en zelfs onderscheid te maken voor welk specifieke antibioticum er resistentie is opgebouwd (de Vos van Steenwijk e.a. 2017; Schmitt e.a. 2017).

4.4 DNA-ANALYSE VOOR HET IDENTIFICEREN VAN RIOOLVREEMDE STOFFEN EN LOZINGEN

Het (illegaal) lozen van rioolvreemde stoffen kan grote consequenties hebben, zoals het verstoren van het zuiveringsproces op rwzi's, milieuschade en gezondheidsrisico's. Rioolvreemde stoffen zijn bijvoorbeeld chemische producten uit de industrie maar kunnen ook biologische producten zijn zoals slachtafval. Voor het identificeren en monitoren van chemische stoffen worden momenteel andere methoden toegepast dan DNA-analyses, zoals massa spectrometrie analyses. Deze technieken kunnen tot zeer lage concentraties detecteren en kunnen zowel worden ingezet voor het aantonen van specifieke stoffen als het uitvoeren van een brede screening.

Wanneer biologische verontreinigingen onderdeel uitmaken van de lozingen kunnen DNA-technieken worden ingezet om deze te identificeren. Voor zwemwaterlocaties is momenteel al een methode ontwikkeld om (indirect) de herkomst van E. coli en enterococci bacteriën te achterhalen (zie ook [paragraaf 2.3](#)). Met de methode die zich richt op bacteriën van de *Bacteroides* familie kan worden onderscheiden of fecale verontreinigingen afkomstig zijn van mensen, runderen, paarden, varkens, vogels en honden (Heijnen e.a. 2014; Kardinaal 2017). Deze DNA-methode kan verder worden uitgebreid om het DNA van specifieke dieren of planten in het geloosde afvalwater te identificeren.

4.5 IMPLEMENTATIE VAN DNA-TECHNIEKEN IN MONITORINGPROGRAMMA'S Rioolstelselbeheer

DNA-analyses geven aanvullend inzicht in de processen die zich afspelen binnen een rioolstelsel. Zo kunnen ze worden gebruikt voor het opsporen van mogelijke zwakten in het rioolstelsel als het gevolg van rioolbuiserosie. Het nut van het toepassen van deze technieken zijn direct verbonden met de mogelijke vragen die er zijn rond een specifiek rioolstelsel. Het controleren op mogelijke lekkages als gevolg van erosie is bijvoorbeeld vooral van toepassing bij oude betonnen rioolsystemen. Momenteel is deze toepassing succesvol ingezet binnen individuele onderzoek-

studies, waarmee hun praktisch applicatie is bewezen. Gebaseerd op de huidige resultaten lijkt nog een stap noodzakelijk om tot consistente resultaten en interpretaties voor toepassing in de praktijk te komen (figuur 4.1).

Gezondheidsrisico's

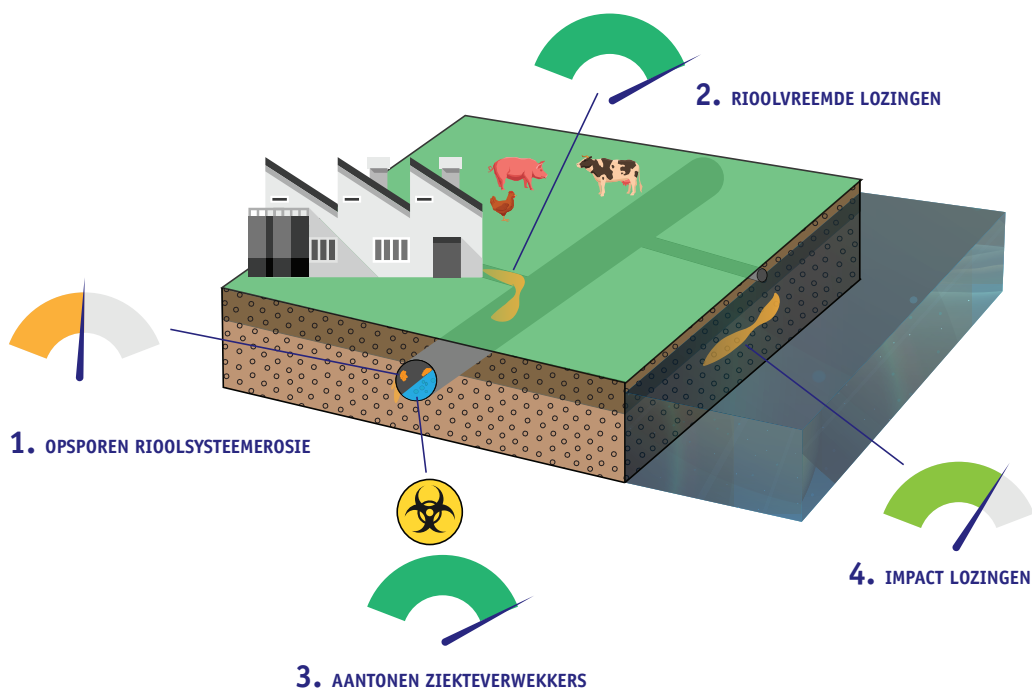
DNA-technieken zijn nu al direct toepasbaar voor het identificeren van pathogenen in afvalwater. Deze analyses kunnen snel en betrouwbaar worden uitgevoerd om specifieke pathogenen te identificeren of voor een bredere screening. Ook bieden deze analyses inzicht in mogelijke ontwikkelingen in de volksgezondheid (aantonen COVID-19 coronavirus) als potentiële gezondheidsrisico's op en rond rwzi's of de ontwikkeling van antibioticaresistentie binnen de waterketen. Het routinematig inzetten van DNA-technieken biedt de mogelijkheid deze risico's continue te monitoren en inzicht te geven wanneer ingrijpen gewenst is.

Rioolvremde stoffen en lozingen

Voor het direct identificeren van chemische rioolvremde stoffen zijn andere analysetechnieken momenteel de standaard. DNA-technieken kunnen nu wel worden ingezet wanneer een lozing een biologische component heeft. Bijvoorbeeld wanneer het om dierlijk of plantaardig afval gaat. Deze DNA-analyses zijn al ontwikkeld en kunnen desgevraagd direct worden ingezet.

FIG 4.1 DNA-TOEPASSINGEN IN HET WATERKETENBEHEER

DNA-technieken kunnen worden ingezet voor: 1. opsporen rioolsysteemerosie, 2. rioolvremde lozingen, 3. aantonen van ziekteverwekkers, 4. het in kaart brengen van de impact van lozingen op het oppervlaktewater. Voor iedere toepassing is een indicatormeter die aangeeft in welk stadium van ontwikkeling deze toepassing zich bevindt. Rood (nog beperkt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), oranje (toepassing wordt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), licht groen (toepassing wordt uitgetest in pilotstudies, een kleine stap is noodzakelijk voor toepassing in de praktijk), groen (toepasbaar in de praktijk).





HOOFDSTUK 5 DOMEIN WATERWEREN

5.1 MONITORINGSWENSEN WATERWERENBEHEERDERS

De primaire functie van het domein waterweren is dat de waterveiligheid in Nederland wordt geborgd. Hiervoor worden dijken en kunstwerken aangelegd en onderhouden om overstromingen en wateroverlast te voorkomen. Hierbij is het voor waterwerenbeheerders van groot belang om in te spelen op toenemende overstromingsrisico's als gevolg van klimaatverandering. Ook willen zij een actueel beeld hebben van de toestand van de dijken die zij onderhouden en of er mogelijke risico's zijn die bijdragen aan de verzwakking van de dijken. Wanneer de veiligheid is geborgd kunnen ook andere medefuncties rond waterweren worden ingepast zoals het verbeteren van de biodiversiteit op en rond dijken. Vanuit de waterwerenbeheerders is vooral een vraag naar een directe praktische toepassing van nieuwe technieken als DNA-analyses bij het beheren van dijken en uiterwaarden.

Voor het onderhoud van dijken worden momenteel al DNA-technieken ingezet bij het opsporen van muskusratten die de dijken kunnen verzwakken. Momenteel zijn andere DNA-toepassingen die kunnen bijdragen aan een verbeterde waterveiligheid of modelfunctie nog maar beperkt onderzocht.

5.2 OPSPOREN VAN MUSKUSRATTEN EN RIVIERKREEFTEN

Muskusratten kunnen door hun graafgedrag schade aan dijken veroorzaken, waardoor deze verzwakken. In Nederland wordt de populatie muskusratten daarom continue onder controle gehouden door deze actief weg te vangen. Om dit effectief te doen is het van groot belang om de populatie muskusratten in kaart te brengen, waardoor het duidelijk wordt waar muskusratten voorkomen en waar ze moeten worden weggevangen. Doordat muskusratten voor een groot deel van de tijd in het oppervlaktewater verblijven laten zij hier ook DNA achter. Met een DNA-analyse kan vervolgens worden aangetoond of er ook daadwerkelijk muskusratten voorkomen in een specifieke waterloop (Ootes 2018). Naast het in kaart brengen van de aanwezigheid van muskusratten kunnen ook individuele muskusratten of verschillende (sub)populaties worden geïdentificeerd. De eerste resultaten met dit soort DNA-studies hebben in Nederland geen specifieke subpopulaties aangetroffen, maar individuen lijken zich binnen een aantal kilometers vrij te verspreiden (de Groot en Bos 2018). Deze onderzoeken leveren een belangrijke bijdragen aan het inzicht hoe de muskusrattenpopulatie zich in Nederland ontwikkelt. Deze informatie is dan ook van grote waarde voor het verbeteren van modellen die de muskusrattenpopulatie voorspellen en om te bepalen waar vangkooien het beste kunnen worden geplaatst (van Loon, Ydenberg, en Bos 2017).

In de afgelopen jaren is het aantal (invasieve) rivierkreeften in de Nederlandse wateren drastisch toegenomen. Deze rivierkreeften veroorzaken schaden aan ecosystemen door bijvoorbeeld waterplanten te verwoesten. Ook graven ze in de oevers waardoor ze kunnen bijdragen aan het verzwakken van kades en dijken. Met een DNA-analyse van het oppervlaktewater kunnen de verschillende soorten rivierkreeften worden opgespoord en daarmee in kaart worden gebracht op welke locaties mogelijk maatregelen dienen te worden getroffen om beschadiging van oevers en dijken te voorkomen (de Groot e.a. 2014).

5.3 DIJKSTABILITEIT EN BIOLOGISCHE PROCESSEN

Dijken van klei of veen bestaan voor een gedeelte uit organisch materiaal, wat mede bijdraagt aan hun sterkte. In Nederland wordt de sterkte van een dijk voornamelijk gemonitord aan de hand van fysische parameters als de dichtheid van het materiaal en watergehalte. Zelden worden

ook parameters als organische gehalte en organische afbraak meegenomen in het bepalen van de sterkte van dijken (den Haan en Feddema 2013).

In veendijken wordt het organisch materiaal door micro-organismen sneller afgebroken als het watergehalte afneemt en zuurstofconcentraties toenemen (Maljanen, Hytönen, en Martikainen 2001). Dit heeft vooral effect op de bovenste laag van dijken en wordt versneld wanneer er scheuren optreden (Borys 1998).

DNA-technieken hebben laten zien dat het afbraakproces van organisch materiaal gerelateerd kan worden aan de microbiële samenstelling in de bodem en dat deze samenstelling verandert aan de hand van het watergehalte (Potter e.a. 2017). Het uitvoeren van een DNA-analyse kan zo dus bijdragen om een beeld te krijgen welke afbraakprocessen zich afspelen binnen dijken en daarmee aanvullend inzicht geven in de sterkte van dijken.

5.4 BIODIVERSITEITSMONITORING OP EN ROND DIJKEN

Dijken zijn vaak levende kunstwerken begroeid met vegetatie en vormen de grens tussen een natuurgebied aan de ene zijde en een cultuurlandschap aan de andere. Daarmee zijn ze zowel onderdeel van het cultuurlandschap als het natuurgebied en dragen ze dus bij aan de biodiversiteit (zie bijvoorbeeld (Sirks e.a. 2020)). In het programma "Ruimte voor de rivier" is in uiterwaarden de vegetatie opnieuw ingericht om de afvoer bij hoogwater efficiënt te laten verlopen. Het in kaart brengen van de vegetatiesamenstelling en ontwikkeling is daarom zowel gelinkt aan de biodiversiteit als de waterveiligheid.

Vegetatiekarteringen worden voornamelijk met de hand uitgevoerd en moeten soms in het groeiseizoen worden herhaald omdat verschillende planten op andere momenten bloeien. DNA-studies voor vegetatiekarteringen laten zien dat deze goed in staat zijn om vergelijkbare en soms meer soorten in een gebied te identificeren tegen relatief lage kosten (De Mattia e.a. 2012; K. A. Thompson en Newmaster 2014). Ook kan via DNA-monsters van de waterbodem een reconstructie worden gemaakt van de vegetatiesamenstelling langs en op oevers (Alsos e.a. 2018).

5.5 IMPLEMENTATIE VAN DNA-TECHNIEKEN IN MONITORINGPROGRAMMA'S

Muskusratten en rivierkreeften

DNA-analyses worden nu al zeer effectief ingezet bij het opsporen van muskusratten en rivierkreeften (figuur 5.1). Een verdere uitbreiding van de DNA-analyses naar verspreidingspatronen van individuen en (sub)populaties levert waardevolle informatie om de ontwikkeling en verspreiding van de populaties te kunnen voorspellen. Hiermee leveren DNA-technieken nu al een belangrijke praktische bijdragen aan het bestrijden van schade aan dijken. Mogelijk kan deze toepassing van DNA-technieken verder worden uitgebreid voor andere (plaag)soorten.

Dijkstabiliteit

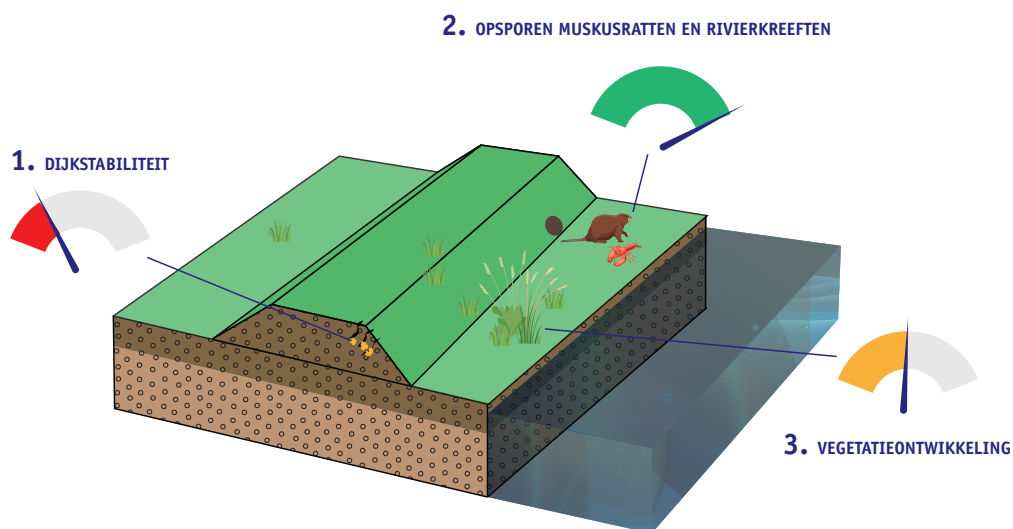
Biologische processen binnen dijken kunnen effect hebben op hun stabiliteit. Het verder onderzoeken van de relatie tussen de microbiële populatie van dijken en wat dit vertelt over de processen die zich binnen de dijk afspelen zou hier meer inzicht in kunnen geven. DNA-technieken zijn zeer effectief om microbiële populaties eenvoudig in kaart te brengen. Vervolgens zal meer onderzoek noodzakelijk zijn om deze populatiesamenstellingen te relateren aan inzicht in de dijkstabiliteit.

Biodiversiteitsmonitoring

Onderzoeken laten zien dat DNA-technieken effectief kunnen worden ingezet voor het analyseren van de vegetatiebiodiversiteit. In pilotstudies zou verder kunnen worden uitgezocht hoe deze technieken effectief kunnen worden ingezet voor het monitoren van de vegetatieontwikkeling rond Nederlandse dijken en uiterwaarden. Dit inzicht kan zowel van belang zijn voor het verbeteren van de biodiversiteit als de waterveiligheid.

FIG 5.1 DNA-TOEPASSINGEN IN HET WATERWERENBEHEER

DNA-technieken kunnen worden ingezet voor: 1. In kaart brengen dijkstabiliteit, 2. opsporen muskusratten en rivierkreeften, 3. in kaart brengen vegetatieontwikkeling op dijken en in uiterwaarden. Voor iedere toepassing is een indicatormeter die aangeeft in welk stadium van ontwikkeling deze toepassing zich bevindt. Rood (nog beperkt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), oranje (toepassing wordt onderzocht, toepassing in de praktijk lijkt nog ver weg), licht groen (toepassing wordt uitgetest in pilotstudies, een kleine stap is noodzakelijk voor toepassing in de praktijk), groen (toepasbaar in de praktijk).



HOOFDSTUK 6

VISIE OP DE TOEPASSING VAN DNA-TECHNIEKEN

6.1

GEDEELDE THEMA'S

Uit de enquête, interviews en literatuuronderzoek blijkt dat er tussen de verschillende domeinen van het waterbeheer (zie [tabel 6.1](#)) gedeelde thema's zijn waarbij DNA-technieken kunnen worden ingezet. De domeinen watersystemen, afvalwatersystemen en waterketen hebben een gedeelde ambitie om te bepalen hoe afvalwater van invloed is op het oppervlaktewater ([paragraaf 2.1, 3.3 en 4.4](#)). Hiervoor kan een gedeelde DNA-methodiek worden ontwikkeld waar de specifieke vragen mee kunnen worden beantwoord. Vanuit een gedeelde methode kunnen deze domeinen met elkaar communiceren in een gedeelde taal, waardoor directer gestuurd kan worden op waterkwaliteitsverbetering.

TABEL 6.1 TOEPASSINGEN VAN DNA-TECHNIEKEN VOOR DE VERSCHILLENDE WATERBEHEERDOMEINEN

Thema	Watersystemen	Afvalwatersystemen	Waterketen	Waterweren
Toestand & diagnose oppervlaktewater	X	X	X	
Gezondheidsrisico's/-onderzoek	X	X	X	
Rioolvreemde stoffen		X	X	
Biodiversiteit en plaagsoorten	X			X
Zuiveringsrendementen		X		
Rioolstelselbeheer			X	
Dijkstabiliteit en veiligheid				X

De domeinen watersystemen, afvalwatersystemen en waterketen delen de ambitie om de aanwezigheid van ziekteverwekkers in kaart te brengen. Wel verschillen voor dit thema de relevante onderwerpen per domein. Zo is het bijvoorbeeld voor watersystemen van belang om inzicht te krijgen in blauwalgenbloei, voor afvalwatersystemen legionella, en voor waterketen een algehele afspiegeling van aanwezige ziekteverwekkers. Voor specifieke ziekteverwekkers zijn specifieke DNA-analyses beschikbaar om zowel aanwezigheid als concentratie te bepalen. Ook vraagt DNA-extractie uit afvalwater of oppervlaktewater om aangepaste protocollen, doordat de extractie-efficiëntie bij afvalwater variabel is (Lemarchand e.a. 2005). Wel kunnen voor deze analyses gedeelde faciliteiten worden gebruikt waardoor het opzetten van deze analyses efficiënt en tegen lagere kosten kan worden gerealiseerd. Dat DNA-technieken hiervoor zeer goed kunnen worden ingezet in de praktijk en vervolgens ook makkelijk kan worden opgeschaald wordt aangetoond door het toepassen van DNA-technieken voor het opsporen van het COVID-19 virus bij rwzi's in heel Nederland (zie [paragraaf 4.3](#)).

Een ander thema waarbij een samenwerking mogelijk is tussen domeinen met een potentiële gedeelde methodiek is de DNA-analyse ontwikkeld voor het achterhalen van de bron van fecale bacteriën. Deze wordt nu ingezet op zwemwaterlocaties, maar zou ook kunnen worden ingezet door waterketenbeheerders om meer inzicht te krijgen in de bron van bepaalde afvalstromen binnen het afvalwatersysteem.

DNA als basis voor systeembegrip

Voor afvalwatersystemen, waterketen en waterwieren leveren DNA-technieken vooral nieuwe mogelijkheden om inzicht te krijgen in de waterketen. Zo worden DNA-technieken ingezet om muskusratten op te sporen, kunnen ziekteverwekkers worden aangetoond en kan de bron van lozingen achterhaald worden.

Voor watersystemen vormen DNA-technieken een mogelijk alternatief voor de huidige reguliere monitoringstechnieken. Tot dusver wordt voornamelijk ingezet om DNA-technieken met de huidige reguliere monitoring te kalibreren. Hierdoor wordt de kracht van DNA-technieken onvoldoende benut door maar van een fractie van de informatie die DNA-technieken kunnen leveren gebruik te maken (zie ook [paragraaf 2.1](#)). Vergelijkingen blijven steken in technische bezwaren, zoals het ontbreken van een vergelijkbare kwantificering van aantal individuen. DNA-technieken kunnen alleen ten volle worden benut als deze ook de basis vormen voor het systeembegrip en de informatie die wordt verkregen ook ten volle wordt benut. Bijvoorbeeld hangen processen en de biologische status van een oppervlaktewater sterk samen met de microbiële samenstelling, waar juist met DNA-technieken een volledig beeld van kan worden gegeven. Het gebruik van deze DNA-informatie is essentieel voor zowel watersysteem-, afvalwatersysteem- en waterketen-beheerders om te begrijpen hoe lozingen doorwerken op een oppervlaktewatersysteem en hier dus beter beleid voor te ontwikkelen.

Een basiscursus DNA

Het toepassen van DNA-technieken vraagt om nieuwe vaardigheden om deze informatie goed te interpreteren. Inhoudelijke kennis over DNA-methoden en het begrijpen wat de voor- en nadelen zijn van deze technieken is essentieel om deze goed toe te passen en volledig te benutten in het waterbeheer. Onder andere bij de waterschapslaboratoria AQUON, Aqualysis en het lab van Waterschap Fryslân wordt expertise opgebouwd voor het uitvoeren van DNA-analyses. Uit de enquête afgenomen bij de waterschappen kwam naar voren dat zij graag zouden deelnemen aan een basis DNA-cursus om inhoudelijk op de hoogte te zijn hoe DNA-technieken werken en hoe deze het beste kunnen worden toegepast. Deze basiscursus zou een belangrijk startpunt kunnen vormen voor het uiteindelijk ontwikkelen van een gedeelde DNA-monitoringsfilosofie en gedeelde aanpak tussen waterschappen en de verschillende watersysteemdomeneinen.

Eén monster voor meerdere vragen

DNA-monsters bevatten vaak meer dan voldoende materiaal om verschillende DNA-analyses op één monster uit te voeren. Daarom zou verkend moeten worden welke DNA-analyses op één en hetzelfde monster kunnen worden uitgevoerd, om zo tegen beperkte kosten meer inzicht te krijgen in de waterketen. Bijvoorbeeld wanneer waterwierenbeheerders DNA-monsters verzamelen voor het opsporen van muskusratten kan dit monster ook direct worden geanalyseerd op de overige biodiversiteit in een waterlichaam. Doordat vanuit één monster meerdere doelen kunnen worden bediend zou het monitoringsnetwerk domein-overstijgend kunnen worden ingericht. Hiermee kan efficiënt het monitoringsnetwerk worden uitgebreid en verbeterd.

Via standaardisatie naar kostenefficiënte monitoring

Tot dusver zijn DNA-technieken voornamelijk toegepast binnen kleinschalige pilotstudies. Bij deze pilots zijn veel verschillende protocollen gebruikt voor het opwerken, sequensen en analyseren van de data. Hierdoor zijn de resultaten tot dusver maar beperkt vergelijkbaar tussen

studies (de Vos van Steenwijk 2018). Daarnaast is bij deze pilotstudies maar een beperkt aantal monsters genomen, waardoor de kosten per monster ook vrij hoog waren. Hierdoor is de belofte dat DNA-analyses opschaalbaar zijn en daardoor veel kostenefficiënter kunnen worden uitgevoerd nog niet ingelost.

De huidige kosten voor het uitvoeren van een DNA-analyse liggen rond de € 40-80 per monster voor zowel specifieke DNA-analyses (bijvoorbeeld het aantonen van blauwalgentoxinegenen) als metabarcoding (voor het in kaart brengen van meerdere soortgroepen). Hierbij zijn de monstername, data interpretatie en dataopslag buiten beschouwing gelaten. Het morfologisch analyseren van een monster is vaak veel kostbaarder, zo kost het uitzoeken van een macrofauna monster rond de € 1200,- vanwege de tijdsinspanning van een analist. Voor DNA-technieken kan een verdere kostenefficiëntieslag worden gemaakt wanneer een specifieke DNA-analyse op grote schaal wordt uitgevoerd. Zo kan het DNA-extractie en analyseproces verder worden geautomatiseerd waardoor het aantal noodzakelijke manuren per monster drastisch kan worden teruggebracht.

Voor een betrouwbare en kostenefficiënte inzet van DNA-technieken is het belangrijk om universele standaarden af te spreken. Voor het toepassen van DNA-analyses zijn al verschillende standaarden ontwikkeld als de MIGS, MIMARKS en MIxS (Field e.a. 2008; Yilmaz e.a. 2011). Daarnaast is er een Europees samenwerkingsverband om tot een gestandaardiseerde DNA-watersysteemmonitoring te komen (DNAqua-Net). Het is sterk aan te bevelen om hierbij aan te sluiten voor de Nederlandse methodeontwikkeling. Het vaststellen van deze standaard zorgt voor opschaalbaarheid van DNA-monitoring en daarmee een kostenreductie. Hierdoor wordt het voor marktpartijen interessanter om te investeren in DNA-technieken en kunnen deze tegen concurrerende prijzen worden aangeboden. Zo kan de focus binnen pilotstudies worden verlegd van methodeontwikkeling naar data interpretatie, waarmee volwaardige systeembekennis kan worden opgebouwd aan de hand van DNA-analyses.

HOOFDSTUK 7

REFERENTIES

-
- Aires-de-Sousa, M., K. Boye, H. de Lencastre, A. Deplano, M. C. Enright, J. Etienne, A. Friedrich, e.a. 2006. 'High Interlaboratory Reproducibility of DNA Sequence-Based Typing of Bacteria in a Multicenter Study'. *Journal of Clinical Microbiology* 44 (2): 619–21. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.2.619-621.2006>.
- Alsos, Inger Greve, Youri Lammers, Nigel Giles Yoccoz, Tina Jørgensen, Per Sjøgren, Ludovic Gielly, en Mary E. Edwards. 2018. 'Plant DNA Metabarcoding of Lake Sediments: How Does It Represent the Contemporary Vegetation'. Onder redactie van Christopher Carcaillet. *PLOS ONE* 13 (4): e0195403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195403>.
- Andújar, Carmelo, Paula Arribas, Clare Gray, Catherine Bruce, Guy Woodward, Douglas W. Yu, en Alfried P. Vogler. 2018. 'Metabarcoding of Freshwater Invertebrates to Detect the Effects of a Pesticide Spill'. *Molecular Ecology* 27 (1): 146–66. <https://doi.org/10.1111/mec.14410>.
- Apothéoz-Perret-Gentil, Laure, Arielle Cordonier, François Straub, Jennifer Iseli, Philippe Esling, en Jan Pawlowski. 2017. 'Taxonomy-Free Molecular Diatom Index for High-Throughput EDNA Biomonitoring'. *Molecular Ecology Resources* 17 (6): 1231–42. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12668>.
- Aylagas, Eva, Ángel Borja, Xabier Irigoien, en Naiara Rodríguez-Ezpeleta. 2016. 'Benchmarking DNA Metabarcoding for Biodiversity-Based Monitoring and Assessment'. *Frontiers in Marine Science* 3 (juni). <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00096>.
- Bartels, A.A., R.C. van Leerdam, W.J. Lodder, L.C. Vermeulen, en H.H.J.L. van den Berg. 2019. 'Inventarisatie van legionellarisico's', 84.
- Becker, Elmar, Hans Ruiters, Ahmed Ahmed, Goris Marga, Bart Wullings, en Edwin Kardinaal. 2017. 'Nieuw dna-instrument voor opsporen van ziekte van Weil bacteriën en de bron in oppervlaktewater'. *Water matters*, december.
- Beentjes, Kevin. 2020. 'DNA technieken voor waterbeheerders'. *STOWA Deltafact*, maart.
- Beentjes, Kevin K., Arjen G. C. L. Speksnijder, Menno Schilthuizen, Bartholomeus E.M. Schaub, en Berry B. van der Hoorn. 2018. 'The Influence of Macroinvertebrate Abundance on the Assessment of Freshwater Quality in The Netherlands'. *Metabarcoding and Metagenomics* 2 (oktober): e26744. <https://doi.org/10.3897/mbmg.2.26744>.
- Biggs, Jeremy, Naomi Ewald, Alice Valentini, Coline Gaboriaud, Tony Dejean, Richard A. Griffiths, Jim Foster, e.a. 2015. 'Using EDNA to Develop a National Citizen Science-Based Monitoring Programme for the Great Crested Newt (*Triturus cristatus*)'. *Biological Conservation* 183 (maart): 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.029>.
- Bijkerk, R., W. Patberg, J.H. Wanink, E. Wallaart, en J. Warmink. 2013. 'De toepassing van eDNA in de monitoring van waterorganismen Hoe ver zijn we en wat moeten we nog weten?' STOWA 2013-24. STOWA.
- Birk, Sebastian, Wendy Bonne, Angel Borja, Sandra Brucet, Anne Courrat, Sandra Poikane, Angelo Solimini, Wouter van de Bund, Nikolaos Zampoukas, en Daniel Hering. 2012. 'Three Hundred Ways to Assess Europe's Surface Waters: An Almost Complete Overview of Biological Methods to Implement the Water Framework Directive'. *Ecological Indicators* 18 (juli): 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.10.009>.
- Borys, Magdalena. 1998. 'Causes of and methods for preventing degradation process of the embankments constructed of organic soils'. *Journal of Water and Land Development*, nr. 2: 121–34.
- Bouchez, T., A. L. Blieux, S. Dequiedt, I. Domaizon, A. Dufresne, S. Ferreira, J. J. Godon, e.a. 2016. 'Molecular Microbiology Methods for Environmental Diagnosis'. *Environmental Chemistry Letters* 14 (4): 423–41. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0581-3>.
- Cheab, Bachar, Malo Le Boulch, Pierre-Luc Mercier, en Nicolas Derome. 2018. 'Taxon-Function Decoupling as an Adaptive Signature of Lake Microbial Metacommunities Under a Chronic

- Polymetallic Pollution Gradient'. *Frontiers in Microbiology* 9 (mei): 869. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00869>.
- Chonova, Teofana, Rainer Kurmayer, Frédéric Rimet, Jérôme Labanowski, Valentin Vasselon, François Keck, Paul Illmer, en Agnès Bouchez. 2019. 'Benthic Diatom Communities in an Alpine River Impacted by Waste Water Treatment Effluents as Revealed Using DNA Metabarcoding'. *Frontiers in Microbiology* 10 (april): 653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00653>.
- Cordier, Tristan, Laura Alonso Sáez, Laure Apotheloz-Perret-Gentil, Eva Aylagas, David A. Bohan, Agnès Bouchez, Anthony Chariton, e.a. 2020. 'Ecosystems Monitoring Powered by Environmental Genomics: A Review of Current Strategies with An Implementation Roadmap', januari. <https://doi.org/10.20944/preprints202001.0278.v1>.
- Cordier, Tristan, Dominik Forster, Yoann Dufresne, Catarina I. M. Martins, Thorsten Stoeck, en Jan Pawlowski. 2018. 'Supervised Machine Learning Outperforms Taxonomy-Based Environmental DNA Metabarcoding Applied to Biomonitoring'. *Molecular Ecology Resources* 18 (6): 1381–91. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12926>.
- Cordier, Tristan, Anders Lanzén, Laure Apothéloz-Perret-Gentil, Thorsten Stoeck, en Jan Pawlowski. 2019. 'Embracing Environmental Genomics and Machine Learning for Routine Biomonitoring'. *Trends in Microbiology* 27 (5): 387–97. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.10.012>.
- Creer, S., V. G. Fonseca, D. L. Porazinska, R. M. Giblin-Davis, W. Sung, D. M. Power, M. Packer, e.a. 2010. 'Ultrassequencing of the Meiofaunal Biosphere: Practice, Pitfalls and Promises'. *Molecular Ecology* 19 (maart): 4–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04473.x>.
- De Mattia, Fabrizio, Rodolfo Gentili, Ilaria Bruni, Andrea Galimberti, Sergio Sgorbati, Maurizio Casiraghi, en Massimo Labra. 2012. 'A Multi-Marker DNA Barcoding Approach to Save Time and Resources in Vegetation Surveys: INTEGRATED IDENTIFICATION SYSTEM FOR PLANTS'. *Botanical Journal of the Linnean Society* 169 (3): 518–29. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01251.x>.
- Deiner, Kristy, Holly M. Bik, Elvira Mächler, Mathew Seymour, Anaïs Lacoursière-Roussel, Florian Altermatt, Simon Creer, e.a. 2017. 'Environmental DNA Metabarcoding: Transforming How We Survey Animal and Plant Communities'. *Molecular Ecology* 26 (21): 5872–95. <https://doi.org/10.1111/mec.14350>.
- Dufrêne, Marc, en Pierre Legendre. 1997. 'Species Assemblages and Indicator Species: The Need for a Flexible Asymmetrical Approach'. *Ecological Monographs* 67 (3): 22.
- Elbrecht, Vasco, Ecaterina Edith Vamos, Kristian Meissner, Jukka Aroviita, en Florian Leese. 2017. 'Assessing Strengths and Weaknesses of DNA Metabarcoding-Based Macroinvertebrate Identification for Routine Stream Monitoring'. Onder redactie van Douglas Yu. *Methods in Ecology and Evolution* 8 (10): 1265–75. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12789>.
- Falk, N., T. Reid, A. Skoyles, A. Grgicak-Mannion, K. Drouillard, en C.G. Weisener. 2019. 'Microbial Metatranscriptomic Investigations across Contaminant Gradients of the Detroit River'. *Science of The Total Environment* 690 (november): 121–31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.451>.
- Federhen, S. 2012. 'The NCBI Taxonomy Database'. *Nucleic Acids Research* 40 (D1): D136–43. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1178>.
- Field, Dawn, George Garrity, Tanya Gray, Norman Morrison, Jeremy Selengut, Peter Sterk, Tatiana Tatusova, e.a. 2008. 'The Minimum Information about a Genome Sequence (MIGS) Specification'. *Nature Biotechnology* 26 (5): 541–47. <https://doi.org/10.1038/nbt1360>.
- Gilbride, K.A., D.-Y. Lee, en L.A. Beaudette. 2006. 'Molecular Techniques in Wastewater: Understanding Microbial Communities, Detecting Pathogens, and Real-Time Process Control'. *Journal of Microbiological Methods* 66 (1): 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.02.016>.

- Goldberg, Caren S., Katherine M. Strickler, en David S. Pilliod. 2015. 'Moving Environmental DNA Methods from Concept to Practice for Monitoring Aquatic Macroorganisms'. *Biological Conservation* 183 (maart): 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.040>.
- Groot, Arjen de, en Daan Bos. 2018. 'Pilot genetische analyse van verspreidingspatronen bij muskusratten', februari, 13.
- Groot, Arjen de, Ivo Laros, Fabrice Ottburg, en Ivo Roessink. 2014. 'environmental DNA invasieve exoten rivierkreeften validatie detectiegrens', 8.
- Haan, Evert den, en Antoine Feddema. 2013. 'Deformation and Strength of Embankments on Soft Dutch Soil'. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers - Geotechnical Engineering* 166 (3): 239–52. <https://doi.org/10.1680/geng.9.00086>.
- Haase, Peter, Steffen U. Pauls, Karin Schindehütte, en Andrea Sundermann. 2010. 'First Audit of Macroinvertebrate Samples from an EU Water Framework Directive Monitoring Program: Human Error Greatly Lowers Precision of Assessment Results'. *Journal of the North American Benthological Society* 29 (4): 1279–91. <https://doi.org/10.1899/09-183.1>.
- Hajibabaei, Mehrdad, Shadi Shokralla, Xin Zhou, Gregory A. C. Singer, en Donald J. Baird. 2011. 'Environmental Barcoding: A Next-Generation Sequencing Approach for Biomonitoring Applications Using River Benthos'. Onder redactie van Christian R. Voolstra. *PLoS ONE* 6 (4): e17497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017497>.
- Heijnen, Leo, Robin Kraan, en Paul Janssen. 2015. 'KWR-2015.106-qPCR-methoden-voor-PAO-GAO-bacterien-1.pdf'. Verkennende studie KWR 2015.106. KWR, RHDHV.
- Heijnen, Leo, Kimberly Learbuch, Edwin Kardinaal, Serge Rotteveel, Hans Ruiter, en Imke Leenen. 2014. 'Fecale verontreiniging in zwemwater identificeren met DNA-merkers'.
- Herder, Jelger. E., en Jan Kranenbarg. 2016. 'eDNA metabarcoding vissen - Verkennend onderzoek naar de mogelijke toepassing van eDNA voor de KRW vismonitoring'. STOWA 2016-19. RAVON/STOWA.
- . 2017. 'eDNA metabarcoding vissen - Onderzoek naar de mogelijke toepassing van eDNA voor de KRW vismonitoring'. STOWA2017-38. RAVON/STOWA.
- Hering, Daniel, Angel Borja, J.Iwan Jones, Didier Pont, Pieter Boets, Agnes Bouchez, Kat Bruce, e.a. 2018. 'Implementation Options for DNA-Based Identification into Ecological Status Assessment under the European Water Framework Directive'. *Water Research* 138 (juli): 192–205. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.003>.
- Hvitved-Jacobsen, T., J. Vollertsen, en J.S. Matos. 2002. 'The Sewer as a Bioreactor – a Dry Weather Approach'. *Water Science and Technology* 45 (3): 11–24. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0044>.
- Jensen, Henriette Stokbro, Raju Sekar, Will J. Shepherd, Andrew M. Osborn, Simon Tait, en Catherine A. Biggs. 2016. 'Spatial and Temporal Variability of Bacterial Communities within a Combined Sewer System'. *MicrobiologyOpen* 5 (4): 616–25. <https://doi.org/10.1002/mbo3.356>.
- Kardinaal, Edwin. 2017. 'Bronosporen fecale verontreiniging in zwemwater 2017'. 2017.077. KWR.
- Kasemier, Stefan. 2015. 'Environmental DNA: Alternatief als KRW monitoring voor macrofauna?'
- Kelly, Martyn, Neil Boonham, Steve Juggins, Peter Kille, David Mann, Daniel Pass, Melanie Sapp, Shinya Sato, en Rachel Glover. 2018. 'A DNA Based Diatom Metabarcoding Approach for Water Framework Directive Classification of Rivers'. SC140024/R. Environment Agency.
- Lange, H.J. de, R. Bijkerk, en G.A. de Groot. 2017. 'zwemmersjeuk in nederland'. 2017–26. STOWA.
- Lemarchand, K., F. Berthiaume, C. Maynard, J. Harel, P. Payment, P. Bayardelle, L. Masson, en R. Brousseau. 2005. 'Optimization of microbial DNA extraction and purification from raw

- wastewater samples for downstream pathogen detection by microarrays'. *Journal of Microbiological Methods* 63 (2): 115–26. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.02.021>.
- Li, Feilong, Ying Peng, Wendi Fang, Florian Altermatt, Yuwei Xie, Jianghua Yang, en Xiaowei Zhang. 2018. 'Application of Environmental DNA Metabarcoding for Predicting Anthropogenic Pollution in Rivers'. *Environmental Science & Technology*, september, acs.est.8b03869. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03869>.
- Loon, E. Emiel van, Ronald C. Ydenberg, en Daan Bos. 2017. 'Statistical estimation of muskrat abundance'. STOWA 2017-41. STOWA.
- Louie, L., A. E. Simor, S. Chong, K. Luinstra, A. Petrich, J. Mahony, M. Smieja, e.a. 2006. 'Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus in Stool Specimens by Commercially Available Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assays'. *Journal of Clinical Microbiology* 44 (11): 4193–96. <https://doi.org/10.1128/JCM.01202-06>.
- Maljanen, Marja, Jyrki Hytönen, en Pertti J Martikainen. 2001. 'Fluxes of N₂O, CH₄ and CO₂ on Afforested Boreal Agricultural Soils'. *Plant and Soil*, 9.
- Martínez-Santos, Miren, Anders Lanzén, Jessica Unda-Calvo, Iker Martín, Carlos Garbisu, en Estilita Ruiz-Romera. 2018. 'Treated and Untreated Wastewater Effluents Alter River Sediment Bacterial Communities Involved in Nitrogen and Sulphur Cycling'. *Science of The Total Environment* 633 (augustus): 1051–61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.229>.
- Ootes, Coos. 2018. 'Muskusrattenvangen opsporen met dna'. STOWA ter info, 2018, 69 druk. <https://www.stowa.nl/sites/default/files/assets/NIEUWS/STOWA%20ter%20Info%27s/sti%2069web.pdf>.
- Payne, Richard J. 2013. 'Seven Reasons Why Protists Make Useful Bioindicators'. *Acta Protozoologica*, Protists as Bioindicators of Past and Present Environmental Conditions, , nr. 52: 9. <https://doi.org/10.4467/16890027AP.13.0011.1108>.
- Potter, Caitlin, Chris Freeman, Peter N. Golyshin, Gail Ackermann, Nathalie Fenner, James E. McDonald, Abdassalam Ehbair, Timothy G. Jones, Loretta M. Murphy, en Simon Creer. 2017. 'Subtle Shifts in Microbial Communities Occur alongside the Release of Carbon Induced by Drought and Rewetting in Contrasting Peatland Ecosystems'. *Scientific Reports* 7 (1): 11314. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11546-w>.
- Purohit, H.J., A. Kapley, A. Khardenavis, A. Qureshi, en N.A. Dafale. 2016. 'Insights in Waste Management Bioprocesses Using Genomic Tools'. In *Advances in Applied Microbiology*, 97:121–70. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2016.09.002>.
- Rees, Helen C., Ben C. Maddison, David J. Middleditch, James R.M. Patmore, en Kevin C. Gough. 2014. 'REVIEW: The Detection of Aquatic Animal Species Using Environmental DNA - a Review of EDNA as a Survey Tool in Ecology'. Onder redactie van Erika Crispo. *Journal of Applied Ecology* 51 (5): 1450–59. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12306>.
- RIVM. 2020. 'Nieuwe coronavirus aangetroffen in rioolwater'. Nieuwe coronavirus aangetroffen in rioolwater. 24 maart 2020. [nieuwe-coronavirus-aangetroffen-in-rioolwater](https://www.rivm.nl/nieuwe-coronavirus-aangetroffen-in-rioolwater).
- Salis, R. K., A. Bruder, J. J. Piggott, T. C. Summerfield, en C. D. Matthaei. 2017. 'High-Throughput Amplicon Sequencing and Stream Benthic Bacteria: Identifying the Best Taxonomic Level for Multiple-Stressor Research'. *Scientific Reports* 7 (1): 44657. <https://doi.org/10.1038/srep44657>.
- Schep, Sebastiaan. 2019. 'Onderzoeksproject eDNA-voedselwebanalyse, resultaten fase 2c'. Witteveen+Bos. 108933/20.007.103.
- Schmitt, H, H Blaak, M Kemper, M van Passel, F Hierink, J van Leuken, A.M. de Roda Husman, e.a. 2017. 'Bronnen van antibioticaresistentie in het milieu en mogelijke maatregelen'. 2017-0058. RIVM.
- Simonin, Marie, Kristofor A. Voss, Brooke A. Hassett, Jennifer D. Rocca, Si-Yi Wang, Raven L.

- Bier, Christy R. Violin, Justin P. Wright, en Emily S. Bernhardt. 2019. 'In Search of Microbial Indicator Taxa: Shifts in Stream Bacterial Communities along an Urbanization Gradient'. *Environmental Microbiology* 21 (10): 3653–68. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14694>.
- Sinclair, Ryan G., Christopher Y. Choi, Mark R. Riley, en Charles P. Gerba. 2008. 'Pathogen Surveillance Through Monitoring of Sewer Systems'. In *Advances in Applied Microbiology*, 65:249–69. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)00609-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00609-6).
- Sirks, Emma, Mariska van Reijn, Wouter Gotjé, en Sjoerd Haitsma. 2020. 'Verkenning ecologische kansen koehool-Lauwersmeer', 52.
- Sollie, Susan, en Edwin Kardinaal. 2020. 'Risicobeoordeling blauwalgen in zwemwater - Nieuwe technieken voor de bepaling van de aanwezigheid van blauwalgtoxines'. 2020–9. STOWA.
- STOWA. 2017. 'Toepassing eDNA voedselwebanalyses voor toestandsbepaling en systeembegrip'. STOWA. 2017. <https://www.stowa.nl/onderwerpen/waterkwaliteit/realiseren-van-ecologische-waterkwaliteitsdoelen-krw/toepassing-edna>.
- Tapolczai, Kálmán, François Keck, Agnès Bouchez, Frédéric Rimet, Maria Kahlert, en Valentin Vasselon. 2019. 'Diatom DNA Metabarcoding for Biomonitoring: Strategies to Avoid Major Taxonomical and Bioinformatical Biases Limiting Molecular Indices Capacities'. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7 (oktober): 409. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00409>.
- Thompson, Ken A., en Steven G. Newmaster. 2014. 'Molecular Taxonomic Tools Provide More Accurate Estimates of Species Richness at Less Cost than Traditional Morphology-Based Taxonomic Practices in a Vegetation Survey'. *Biodiversity and Conservation* 23 (6): 1411–24. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0672-z>.
- Thompson, Murray S. A., Claire Bankier, Thomas Bell, Alex J. Dumbrell, Clare Gray, Mark E. Ledger, Katja Lehmann, e.a. 2016. 'Gene-to-Ecosystem Impacts of a Catastrophic Pesticide Spill: Testing a Multilevel Bioassessment Approach in a River Ecosystem'. *Freshwater Biology* 61 (12): 2037–50. <https://doi.org/10.1111/fwb.12676>.
- Timmers, Peer, Edwin Kardinaal, Joost van de Bulk, Susan Sollie, en Leo Heijnen. 2019. 'DNA fingerprinting in oppervlaktewaterbeheer'. KWR 2019.039. KWR.
- Veraart, Annelies J., Maurício R. Dimitrov, Arina P. Schrier-Uijl, Hauke Smidt, en Jeroen J. M. de Klein. 2017. 'Abundance, Activity and Community Structure of Denitrifiers in Drainage Ditches in Relation to Sediment Characteristics, Vegetation and Land-Use'. *Ecosystems* 20 (5): 928–43. <https://doi.org/10.1007/s10021-016-0083-y>.
- Vermeulen, L.C., P.S. Brandsema, J. Van De Kasstele, B.C.J. Bom, H.H.J.L. Van Den Berg, en A.M. De Roda Husman. 2019. 'Mogelijke luchtverspreiding van Legionella door afvalwaterzuiveringsinstallaties: een patiënt-controle onderzoek'. <https://doi.org/10.21945/RIVM-2019-0195>.
- Vincke, E., N. Boon, en W. Verstraete. 2001. 'Analysis of the Microbial Communities on Corroded Concrete Sewer Pipes ? A Case Study'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57 (5–6): 776–85. <https://doi.org/10.1007/s002530100826>.
- Visco, Joana Amorim, Laure Apothéloz-Perret-Gentil, Arielle Cordonier, Philippe Esling, Loïc Pillet, en Jan Pawlowski. 2015. 'Environmental Monitoring: Inferring the Diatom Index from Next-Generation Sequencing Data'. *Environmental Science & Technology* 49 (13): 7597–7605. <https://doi.org/10.1021/es506158m>.
- Vos van Steenwijk, Aleida A. de. 2018. 'Verkenning van de potentie van metagenomics voor monitoring van waterkwaliteit'. STOWA 2018-14. STOWA.
- Vos van Steenwijk, Aleida A. de, Frithkof Godschalk, Marc van Bommel, en Mark van Loosdrecht. 2017. 'Next-generation DNA-monitoringstechnieken voor het nieuwe zuiveren', 7.
- Wanink, J.H., en G. Wolters. 2013. 'Onderzoek zwemmersjeuk recreatieplas Het Lageveld: Analyse watermonsters, voor en achter een cercariënbarrière, met behulp van de eDNA-meth-

-
- ode'. 2013–056. Koeman en Bijkerk.
- Weeren, Bert-Jan van, en van der Wijngaart. 2017. 'Hydrochip monitoren van de waterkwaliteit met behulp van DNA'. STOWA 2017-23A.
- Xia, Yu, Xianghua Wen, Bing Zhang, en Yunfeng Yang. 2018. 'Diversity and Assembly Patterns of Activated Sludge Microbial Communities: A Review'. *Biotechnology Advances* 36 (4): 1038–47. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.005>.
- Yilmaz, Pelin, Renzo Kottmann, Dawn Field, Rob Knight, James R Cole, Linda Amaral-Zettler, Jack A Gilbert, e.a. 2011. 'Minimum Information about a Marker Gene Sequence (MIMARKS) and Minimum Information about Any (x) Sequence (MIXS) Specifications'. *Nature Biotechnology* 29 (5): 415–20. <https://doi.org/10.1038/nbt.1823>.
- Yu, Ke, en Tong Zhang. 2012. 'Metagenomic and Metatranscriptomic Analysis of Microbial Community Structure and Gene Expression of Activated Sludge'. Onder redactie van Mark R. Liles. *PLoS ONE* 7 (5): e38183. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038183>.

BIJLAGEN





BIJLAGE 1 WATERSYSTEMEN

Voor het STOWA-domein watersystemen hebben 33 waterbeheerders van 18 verschillende waterschappen de enquête DNA-technieken in waterbeheer ingevuld. Aanvullend zijn er voor het domein watersystemen verschillende interviews afgenomen met experts bij de verschillende waterschappen die ook hebben deelgenomen aan deze enquête.

1.1 DOELEN EN AMBITIES VAN DE BIOLOGISCHE MONITORING

1.1.1 Huidige doelen en ambities

Bij de huidige reguliere biologische monitoring ligt de focus voornamelijk op inzicht krijgen in de toestand van het watersysteem, gevolgd door inzicht krijgen in de trends/processen in het watersysteem.



Het voornaamste doel van de huidige reguliere biologische monitoringsopzet is: (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (7))

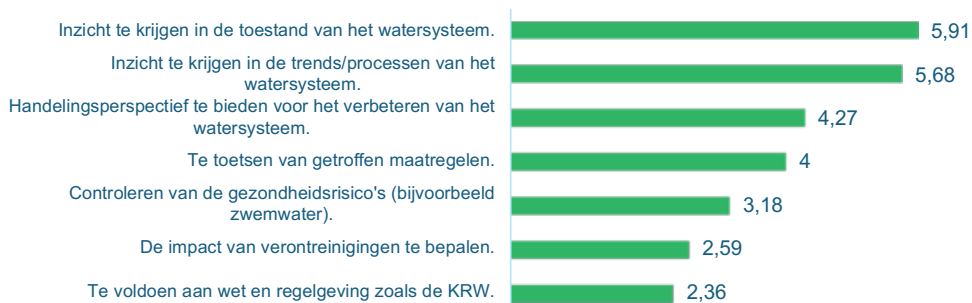


1.1.2 TOEKOMSTIGE DOELEN EN AMBITIES

Ook voor de toekomst lijken toestand bepaling en inzicht krijgen in de trends/processen de belangrijkste doelen. Aan deze prioriteitsvolgorde zouden DNA-technieken moeten bijdragen aan de monitoring.



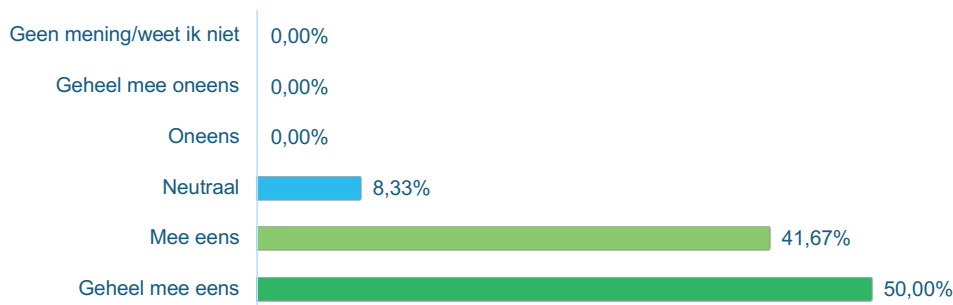
In de toekomst zie ik graag dat de reguliere monitoring het voornaamste doel heeft om... (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (7))



1.3 KWANTITATIEVE VERSUS RELATIEVE AANTALLEN

Binnen de huidige biologische monitoring worden de meeste soorten kwantitatief uitgewerkt, onder andere omdat dit wordt gevraagd voor het uitrekenen van de ecologische kwaliteitsratio (EKR-scores) voor de beoordeling vanuit de KRW. Via DNA-technieken is het echter niet mogelijk om soortenmonitoring op dezelfde wijze kwantitatief uit te voeren. DNA-technieken zijn juist sterk in het aantonen van de aan of afwezigheid van soorten en de relatieve aantallen tussen soorten. Watersysteembeheerders vinden over het algemeen dat kwantitatieve soortenmonitoring essentieel is voor zowel het uitvoeren van de KRW-beoordeling als ook in algemene zin om een goed inzicht te krijgen in de toestand, trends of processen binnen een watersysteem. Wel zijn er monitoringsonderdelen waarbij soorten aan- of afwezigheid en relatieve aantallen voldoende informatie opleveren.

➤ **Kwantitatieve soortenmonitoring (van bijvoorbeeld macrofauna) is een essentieel onderdeel om een goed beeld te krijgen van de toestand van een watersysteem.**



1.4 UITBREIDEN BIOLOGISCHE MONITORINGSFREQUENTIE

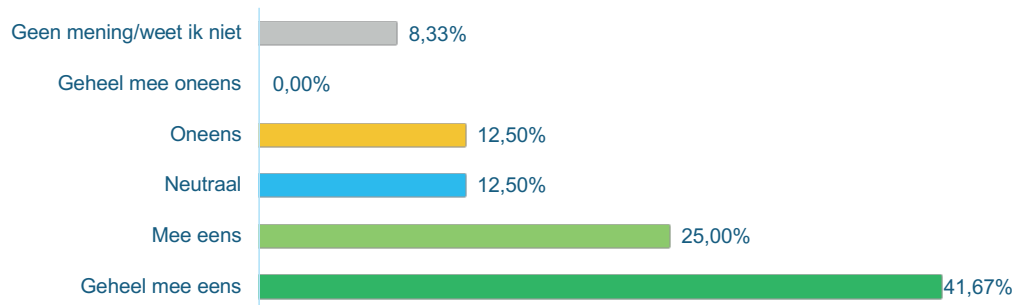
Het uitbreiden van de biologische monitoring wordt als een belangrijke verbetering gezien om een beter beeld te krijgen van de toestand en de processen in watersystemen. Veel KRW-waterlichamen worden eenmaal per jaar bemonsterd op slechts één locatie. Door de biologische bemonstering uit te breiden naar meerdere locaties en herhalingen in het jaar kan er een ruimtelijk inzicht worden verkregen in variaties in de ecologische toestand binnen een waterlichaam. Dit verbetert ook de informatiepositie waarop maatregelen voor het verbeteren van de waterkwaliteit kunnen worden gebaseerd. Ook zou een hogere meetfrequentie bijdragen aan een actueel beeld van ziekteverwekkers bij zwemlocaties of evenementen (bijvoorbeeld city-swim). Hierbij is het belangrijk dat er niet alleen regelmatig monsters worden genomen maar dat deze ook snel worden geanalyseerd en geïnterpreteerd.

Verschillende waterbeheerders geven aan dat in stromende wateren een hogere meetfrequentie van grote waarde kan zijn voor de toestand bepaling, omdat deze locaties sterk worden beïnvloed door gebeurtenissen bovenstrooms. Ook is er de ambitie om de monitoring uit te breiden naar wateren die buiten de KRW vallen maar wel in verbinding staan met KRW-wateren. Hiermee kunnen veranderingen in het KRW-waterlichaam beter worden verklaard wanneer er veranderingen in de aanliggende wateren optreden.

In het huidige monitoringsprogramma moeten er keuzes worden gemaakt waar en welke monitoringsinspanningen er geleverd kunnen worden gebaseerd op de beperkingen in het monito-

ringsbudget. Een uitbreiding/aanpassing van de monitoring met technieken zoals DNA-analyses zouden dus ook kostenefficiënt moeten zijn.

➤ **Het uitbreiden van de biologische monitoringsfrequentie zou een belangrijke bijdrage leveren aan onze kennis van ons systeem en het verbeteren van de aquatische ecologie.**

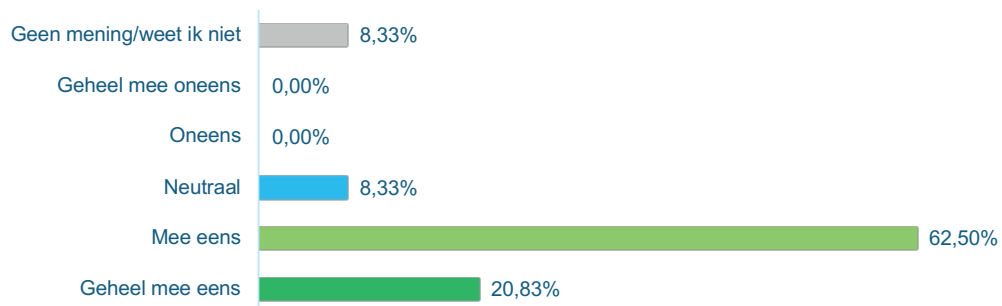


1.5 POPULATIE ISOLATIE/UITWISSELING

Naast dat met DNA-technieken soorten kunnen worden geïdentificeerd, kan met andere analyses ook de verwantschap worden bepaald. Hiermee kan de uitwisseling en isolatie van een populatie worden bepaald, wat een maat is voor populatie robuustheid voor bijvoorbeeld een veranderd ecosysteem. Een sterk geïsoleerde populatie kan natuurlijk moeilijk een gebied verlaten wanneer omstandigheden verslechteren. Een hoge genetische uitwisseling met andere populaties kan ook bijdragen aan de vitaliteit van een populatie.

De watersysteembeheerders geven aan dat ze het er eens mee zijn dat technieken die kunnen helpen bij het bepalen van de populatie isolatie/uitwisseling een belangrijke bijdrage leveren aan hun kennis en het verbeteren van de aquatische ecologie. Deze techniek kan mogelijk nuttig worden ingezet om de isolatie en uitwisseling tussen vissenpopulaties te bepalen.

➤ **Inzicht krijgen in de populatie isolatie/uitwisseling zou een belangrijke bijdrage leveren aan onze kennis en het verbeteren van de aquatische ecologie.**



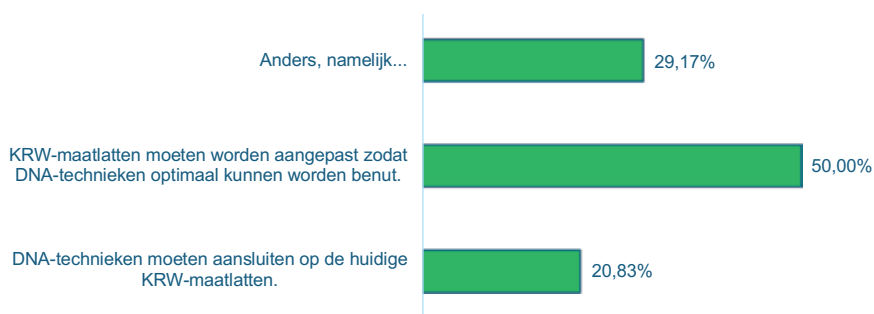
1.6 DNA-TECHNIEKEN EN KRW-MAATLATTEN

Voor het bepalen van de KRW-toestand wordt momenteel uitgegaan van een bepaald type monitoring waarvoor aansluitende maatlatten zijn ontwikkeld om de EKR-scores te berekenen.

DNA-technieken verschillen van deze huidige KRW-monitoring, waar enerzijds meer informatie kan worden gegenereerd (uitgebreidere biodiversiteitmonitoring) en anderzijds DNA-technieken beperkter zijn (geen telling van het aantal individuen). Daardoor zullen DNA-technieken informatie van een andere aard verschaffen dan nu met de huidige monitoring wordt verkregen.

De helft van de waterbeheerders die deze enquête hebben ingevuld geven aan dat wanneer er mogelijkheden zijn om de KRW-monitoring (aanvullend) met DNA-technieken uit te voeren, hiervoor er ook passende maatlatten dienen te worden gemaakt. 20% van de waterbeheerders heeft aangegeven dat DNA-technieken zoveel mogelijk dienen aan te sluiten bij de huidige maatlatten. Dit is onder andere gemotiveerd omdat het ontwikkelen van maatlatten in het verleden zeer kostbaar is geweest, door bijvoorbeeld de noodzaak van het vergelijken met referentiewateren.

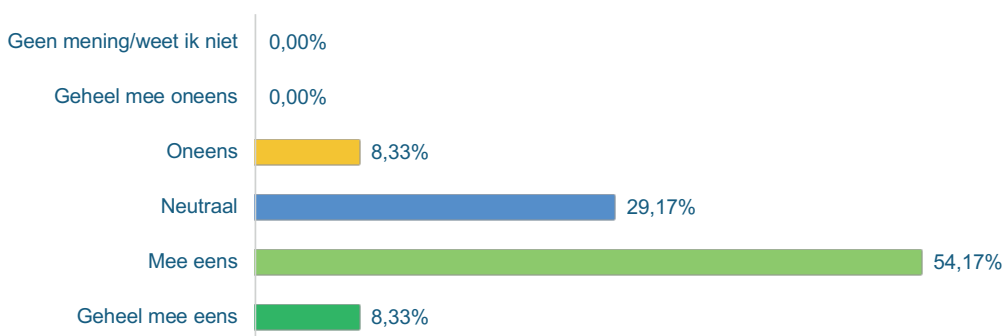
➤ Hoe moeten DNA-technieken binnen de KRW worden toegepast?



1.7 MONITORINGSBETROUWBAARHEID

De huidige monitoring wordt door de waterbeheerders over het algemeen als voldoende betrouwbaar beschouwd. Daarmee worden de huidige monitoringstechnieken ook als voldoende robuust ervaren om de toestand van een waterlichaam te bepalen en om beleid voor maatregelen hierop te baseren.

➤ De huidige conventionele monitoring geeft betrouwbare informatie over ons watersysteem:

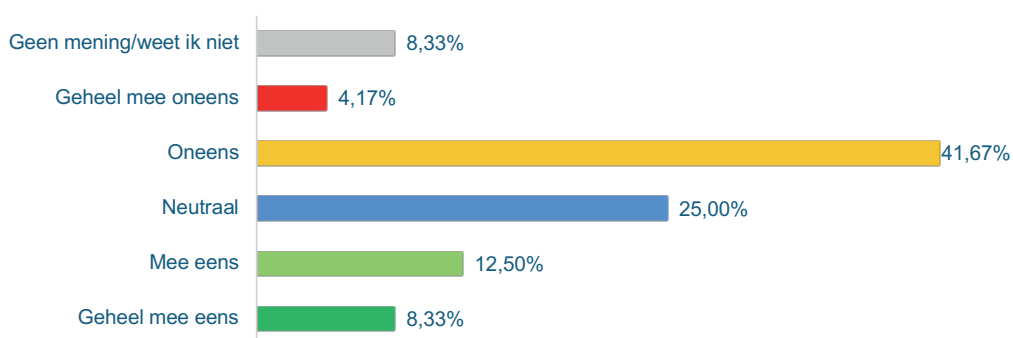


1.8 MONITORINGSKOSTEN

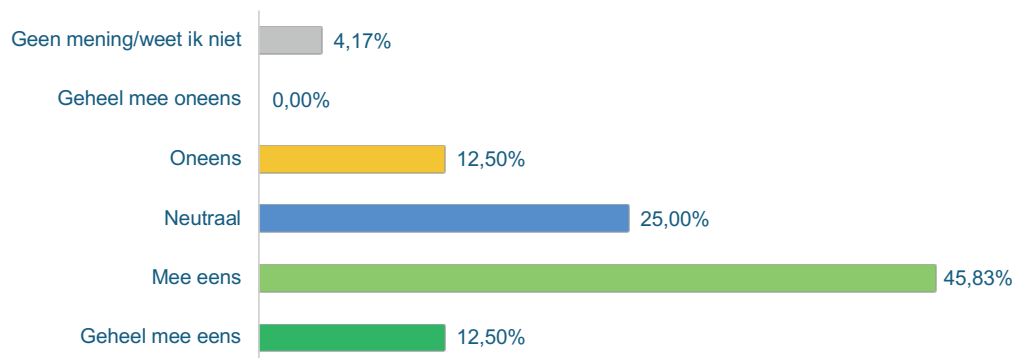
Naast dat waterbeheerders over het geheel genomen positief zijn over de kwaliteit van de conventionele monitoring, zijn ze minder positief over de huidige kostenverhouding en de inzichten

die worden verkregen. De motivatie waarom dit momenteel geen goede verhouding is lopen uiteen. Een aantal waterbeheerders geeft aan dat binnen hun waterschap er te weinig budget ter beschikking worden gesteld voor het uitvoeren van de monitoring. Ook wordt aangegeven dat een aantal onderdelen van de huidige monitoring zeer belangrijk en waardevol zijn maar ook zeer kostbaar (bijvoorbeeld macrofauna bemonstering). Daarnaast laten de resultaten van een aantal conventionele methoden lang op zich wachten nadat de monsters zijn genomen. Ook wordt door een aantal waterbeheerders aangegeven dat de monitoring sterk inzet op slechts een fractie van de biologische/chemische data binnen een watersysteem. Aanvullende investeringen in de huidige biologische monitoring worden door de meeste waterbeheerders als zeer noodzakelijk gezien.

➤ **De huidige kosten van de conventionele monitoring staan in goede verhouding tot de inzichten die wij verkrijgen over het systeem:**



➤ **Aanvullende investeringen in de biologische monitoring zijn noodzakelijk:**



1.9 DNA-COMMUNITY ANALYSE

Aan de hand van een voorbeeld voor het toepassen van community analyses (zie box) is gevraagd of deze techniek een nuttige toevoeging is aan het waterbeheer. De mogelijkheden voor het uitvoeren van een DNA-community analyse worden door waterbeheerders als nuttig tot zeer nuttig beschouwd. Met deze techniek zou mogelijk vooral meer inzicht worden verkregen in de processen binnen een waterlichaam, doordat een DNA-community-analyse inzicht geeft in het voedselweb en momenteel onderbelichte domeinen als bacteriën.



UITLEG COMMUNITY ANALYSE MET DNA VOOR MAATREGEL-EFFECT ANALYSES

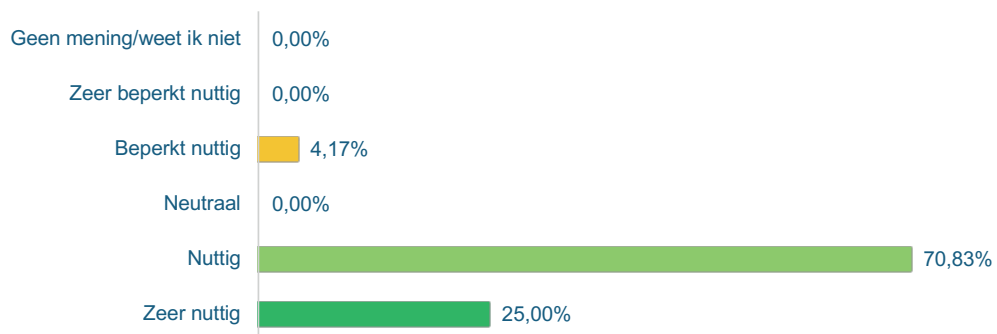
DNA kan gebruikt worden voor het analyseren van complete communities die in het water leven, waarmee het effect van bepaalde maatregelen of druk op de watersystemen kan worden bepaald. Dat kan zowel met generieke DNA-merkers die zoveel mogelijk taxonomische groepen tegelijk oppikken, als met merkers gericht op een bepaalde groep.

In een onderzoek uitgevoerd door Naturalis en CLM naar de effecten van agrarische activiteiten op zoetwater communities, door de introductie van insecticide en meststoffen, is gekeken naar veranderingen in drie taxonomische groepen, die verschillende trofische niveaus vertegenwoordigen in een ecosysteem: chironomiden, phytoplankton en bacteriën. De samenstelling van deze groepen is bepaald op diverse punten voor en na de toediening van insecticiden en meststoffen in een modelsysteem. De samenstelling van deze taxonomische groepen veranderen relatief snel als gevolg van een verontreiniging en zijn dus zeer indicatief voor de processen die zich afspelen.

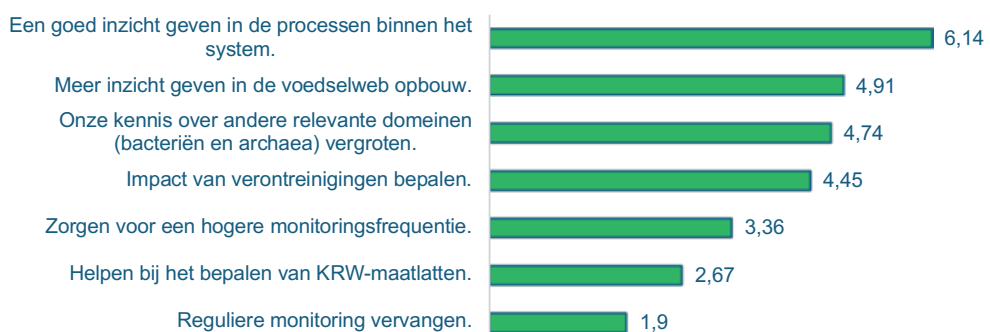
DNA helpt ons zo met het ontsluiten van informatie over deze groepen, die met traditionele monitoringsmethoden niet of lastig toegankelijk zijn voor snelle analyses, en levert kennis op over mogelijke nieuwe bio-indicatoren om verontreinigingen die het ecosysteem kunnen beïnvloeden snel te kunnen detecteren.



De toepassing van DNA-community analyse voor maatregel-effect analyses wordt door u ingeschat als:



DNA-technieken als community analyse kunnen voor ons: (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (7))



1.10 SPECIFIEKE SOORTENIDENTIFICATIE

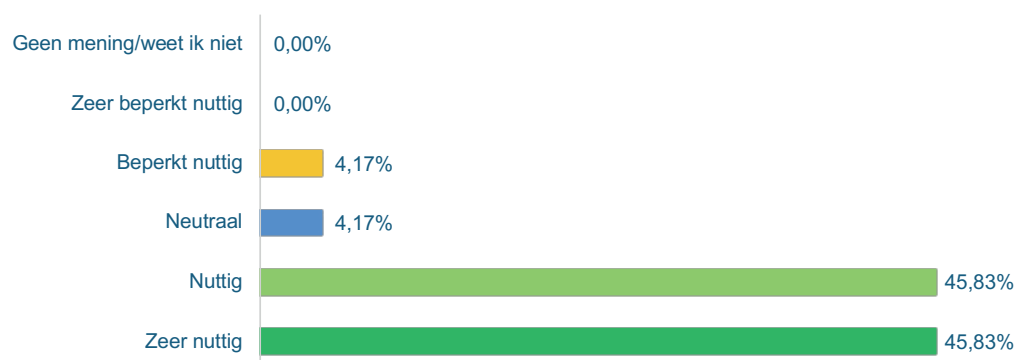
Aan de hand van een voorbeeld voor het toepassen van soort specifieke DNA-analyse binnen waterlichamen (zie box) is gevraagd of deze techniek een nuttige toevoeging is aan het waterbeheer. Het inzetten van DNA-technieken voor het opsporen van specifieke soorten wordt als een (zeer) nuttige toepassing beschouwd.

➤ SPECIFIEKE SOORTDETECTIE VAN QUAGGAMOSSELEN MET DNA:

Sinds 2004 komt de Quaggamosseel (*Dreissena burgensis*) voor in de Nederlandse wateren. Deze soort komt van oorsprong uit Oost-Europa en staat onder meer bekend om zijn invasieve karakter op plekken waar hij van oorsprong niet voorkomt, zoals in Noord-Amerika. In Nederlandse wateren wordt deze mossel steeds meer waargenomen, waar het potentieel voor grote verschuivingen in het systeem kan zorgen, met gevolgen voor de kwaliteit van het water.

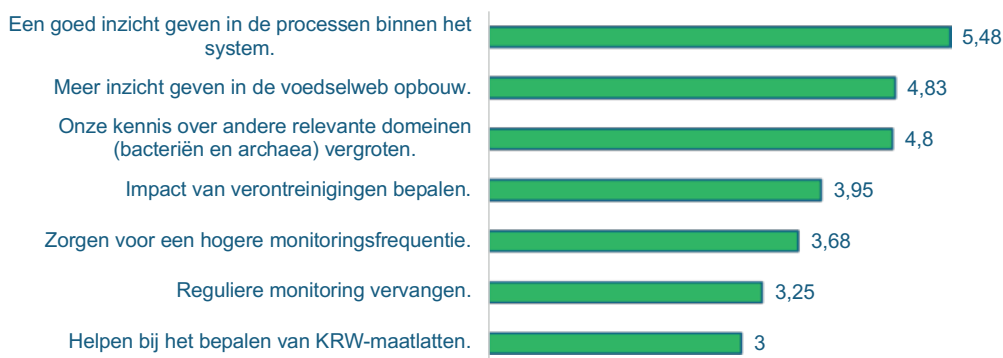
Mosselen zijn filter feeders en filteren vaak algen en andere microscopische organismen uit grote volumes water. Daarmee kunnen ze zowel een sterk positief als een negatief effect hebben op watersystemen. Hiervoor is het belangrijk om de aanwezigheid en verspreiding van deze mosselsoort goed te monitoren. Doordat de mosselen vaak op substraat op de bodem van waterlichamen leven is het echter moeilijk om een beeld te krijgen van hun verspreiding en dichtheden met behulp van visuele inspectie. Tevens lijken Quagga mosselen enorm op de naast verwante Driehoeksmossel waardoor het moeilijk is om een scherp beeld te krijgen van de verspreiding van de Quagga alleen. Daarom kunnen DNA-technieken i.p.v. een visuele inspectie worden ingezet om te onderzoeken waar de Quagga voorkomen en kunnen ook relatieve verschillen in Quagga dichtheden worden vastgesteld tussen verschillende waterlichamen. Tevens kunnen we met deze DNA-techniek inzicht krijgen in hun voortplantingsgedrag. Bijvoorbeeld door DNA-technieken toe te passen in tijdreeksen kunnen voortplantingsmomenten, waarbij grote hoeveelheden DNA vrijkomen, worden vastgesteld. Deze techniek is uiteraard ook voor andere specifieke soorten geschikt die een sterke link hebben met de waterkwaliteit of die van grote invloed zijn op watersystemen.

➤ Specifieke soortdetectie met DNA-technieken wordt door u ingeschat als:





DNA-technieken als specifieke soortdetectie kunnen voor ons:



1.11

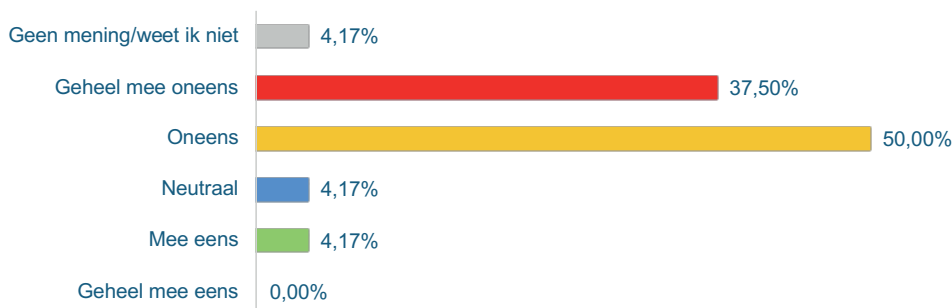
DNA-DATABEHEER

Bij het toepassen van DNA-technieken wordt er een grote hoeveelheid data gegenereerd, met name bij community analyses, die als basis dienen voor de uiteindelijke resultaten. Tot dusver is bij deze pilots het beheer van de data door de uitvoerende partijen uitgevoerd.

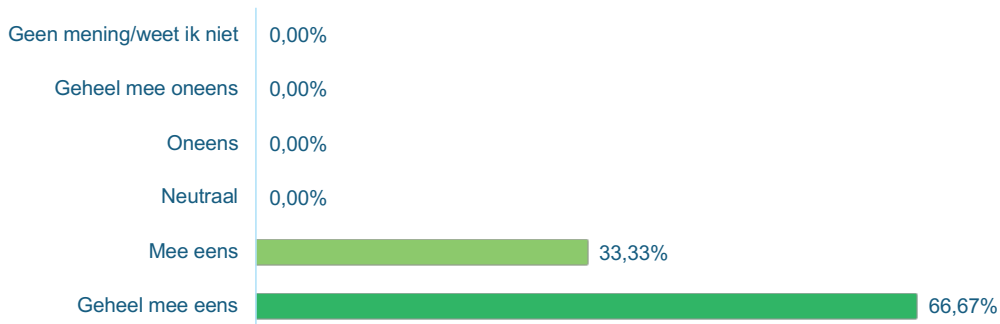
Wanneer DNA-technieken structureler onderdeel gaan uitmaken van het waterbeheer moeten er oplossingen komen hoe de DNA-data moet worden opgeslagen en welke partijen hier verantwoordelijk voor zijn. Momenteel zijn de waterbeheerders maar zeer beperkt op de hoogte welke ICT-infrastructuur er bijvoorbeeld dient te worden opgezet om DNA-gegevens te beheren. Wel geven de geënquêteerde aan dat de data bij voorkeur makkelijk uitwisselbaar moet zijn met andere organisaties zodat de data voor verschillende toepassingen en met verschillende methoden kan worden geanalyseerd. Dit vraagt dus om een standaardisering van het databeheer.



Met DNA-community analyses wordt een grote hoeveelheid data gegenereerd die voor het beantwoorden van meerdere vragen kan worden ingezet (maatregel-effect analyse, voedselweb opbouw). Hiervoor is het essentieel dat de gegenereerde data goed wordt opgeslagen en beheerd, wat om bepaalde ICT-infrastructuur vraagt. Ik ben voldoende op de hoogte van de benodigde ICT-infrastructuur voor het toepassen en beheren van DNA-community data.



- **De interpretatie van community DNA-profielen kan sterk verbeteren wanneer meerdere profielen met elkaar vergeleken kunnen worden. Doordat DNA-community analysemethoden sterk gestandaardiseerd kunnen worden, kunnen ook vergelijkingen worden gemaakt met elders gegenereerde profielen. Hiervoor is het wel noodzakelijk dat DNA-resultaten met andere partijen worden uitgewisseld. Bent u het er mee eens dat voor het verbeteren van de interpretatie van resultaten, DNA-gegevens met andere partijen moeten kunnen worden uitgewisseld.**



1.12 VERVOLGSTAPPEN VOOR INTEGREREN REGULIERE MONITORING

Om de kansen voor het integreren van DNA-technieken te vergroten moet volgens de waterbeheerders meer worden ingezet op het uitvoeren van pilotstudies en fundamenteel onderzoek. Ook wordt wet- en regelgeving als een mogelijk struikelblok gezien voor het inzetten van DNA-technieken als onderdeel van de KRW-beoordeling of zwemwaterkwaliteit. In dit kader zou dus ook naar deze huidige wet- en regelgeving moeten worden gekeken zodat nieuwe technieken makkelijker geïntegreerd kunnen worden.

- **Wat is volgens u nodig om nieuwe technieken (zoals DNA-technieken) te integreren in het reguliere waterbeheer: (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (5))**



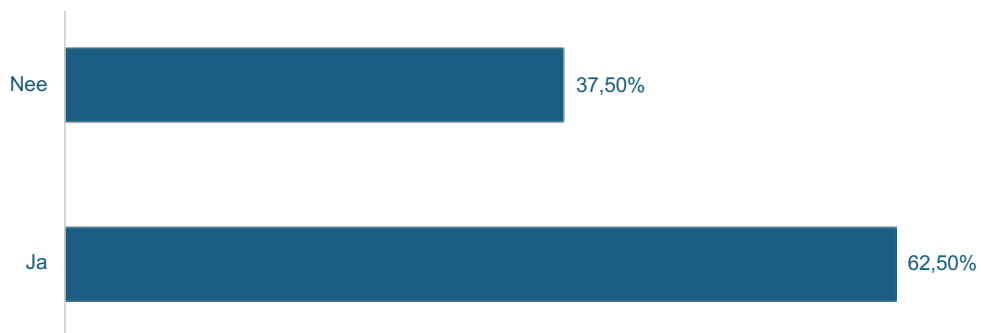
1.13 VOORLICHTING

De kennis over DNA-technieken en hoe deze zijn toe te passen, varieert sterk tussen de verschillende watersysteemexperts. Hierdoor zijn er veel misverstanden over de technische uitvoering van DNA-technieken. Ook lijken de voor- en nadelen van DNA-technieken niet geheel duidelijk uiteen te zijn gezet. Verder mist er momenteel sturing en kennis om de vertaalslag te maken

van een DNA-community analyse naar wat dit betekent voor de toestand/processen binnen een watersysteem.

Meer dan 60% van de watersystemenexperts heeft aangegeven behoefte te hebben aan een cursus die vanaf de basis uitlegt hoe DNA-technieken werken en hoe resultaten moeten worden geïnterpreteerd.

➤ **Zou u geïnteresseerd zijn in een basiscursus DNA in het waterbeheer?**





BIJLAGE 2 AFVALWATERSYSTEMEN

Voor het STOWA-domein afvalwatersystemen hebben 10 waterbeheerders van 10 verschillende waterschappen de enquête DNA-technieken in waterbeheer ingevuld. Aanvullend zijn er voor het domein afvalwatersystemen verschillende interviews afgenomen met experts bij de verschillende waterschappen die ook hebben deelgenomen aan deze enquête.

2.1 DOELEN EN AMBITIES VAN DNA-MONITORING

De geënquêteerde waterbeheerders gaven aan dat met DNA-technieken inzicht moet worden verkregen in trends/processen binnen waterzuiveringen en dat deze ook handelingsperspectief moet bieden voor het verbeteren van de waterzuivering.



De toepassing van DNA-technieken zouden als volgt moeten bijdragen aan de analyses van waterzuiveringen:(Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (6))



2.2 RWZI-COMMUNITY ANALYSE

Aan de hand van een voorbeeld voor het toepassen van RWZI-community analyses (zie [box](#)) is gevraagd of deze techniek een nuttige toevoeging is aan het afvalwaterbeheer. De geënquêteerde waterbeheerders hebben deze toepassing als nuttig tot zeer nuttig bestempeld. Deze toepassing zou vooral moeten bijdragen aan handelingsperspectief voor het verbeteren van de waterzuivering.

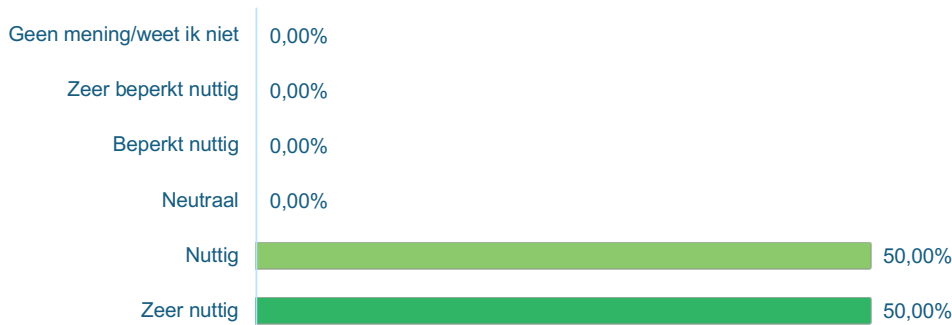


VOORBEELD RWZI-COMMUNITY ANALYSE

Afvalwaterzuiveringen (RWZI's) verwijderen stikstof, fosfaat en microverontreinigingen zoals pesticiden en medicijnresten. In de RWZI zijn bacteriën voor een groot deel verantwoordelijk voor de verwijdering van deze stoffen. Echter, is er momenteel beperkt inzicht in hoe de bacteriële samenstelling van RWZI's bijdraagt aan het zuiveringsrendement. DNA-technieken kunnen routinematig de gehele microbiële samenstelling van een RWZI in kaart brengen wat nieuwe inzichten in het zuiveringsproces geeft en nieuw handelingsperspectief geeft voor het optimaliseren van het zuiveringsproces.



Community analyse van RWZI's met DNA-technieken wordt door u ingeschat als:



De toepassing van DNA-community analyse zouden als volgt moeten bijdragen aan de monitoring van waterzuiveringen: (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (6))



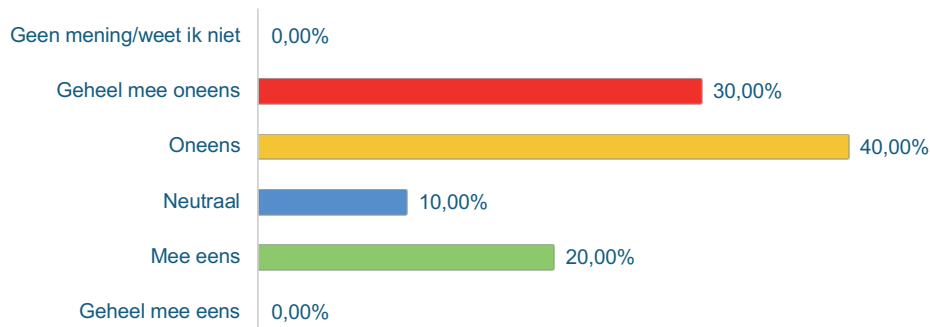
2.3

DNA-DATABASEER

Wanneer DNA-technieken zoals community analyses structureler onderdeel gaan uitmaken van het waterbeheer moet ook worden nagedacht hoe DNA-data moet worden opgeslagen en welke partijen hier verantwoordelijk voor zijn. Momenteel zijn de waterbeheerders maar zeer beperkt op de hoogte welke ICT-infrastructuur er bijvoorbeeld dient te worden opgezet om DNA-gegevens te beheren.



Met DNA-community analyses wordt een grote hoeveelheid data gegenereerd die voor het beantwoorden van meerdere vragen kan worden ingezet (bv. maatregel-effect analyse). Hiervoor is het essentieel dat de gegenereerde data goed wordt opgeslagen en beheerd, wat om bepaalde ICT-infrastructuur vraagt. Ik ben voldoende op de hoogte van de benodigde ICT-infrastructuur voor het toepassen en beheren van DNA-community data.



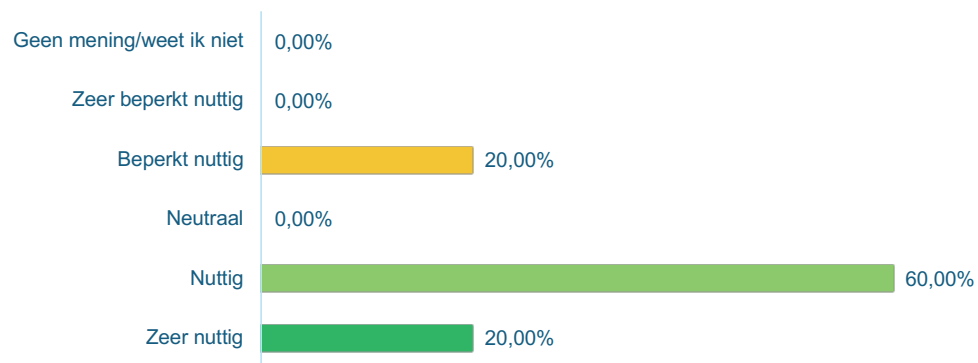
2.3.1 Specifieke soortenidentificatie

Aan de hand van een voorbeeld voor het toepassen van soort specifieke DNA-analyse binnen RWZI's (zie [box](#)) is gevraagd of deze techniek een nuttige toevoeging is aan het afvalwaterbeheer. De geënquêteerde waterbeheerders hebben deze toepassing over het algemeen als nuttig bestempeld. Deze techniek zou voornamelijk moeten bijdragen aan een verbetering van het inzicht in trends/processen binnen de waterzuiveringen.

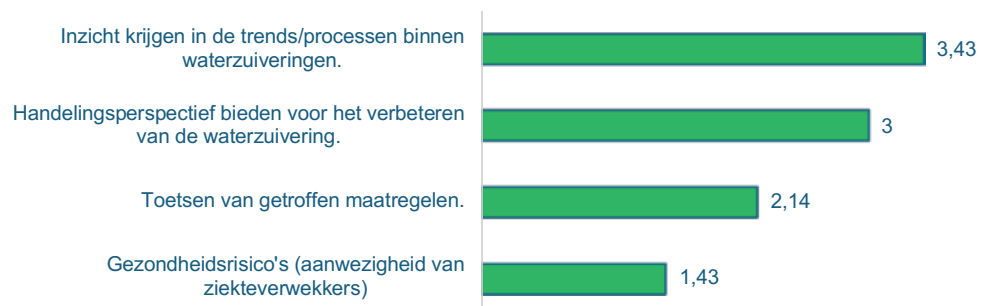
➤ VOORBEELD SPECIFIEKE SOORTENIDENTIFICATIE

Naast een gehele community analyse kan men op de zuivering met DNA-technieken ook op zoek gaan naar specifieke bacteriële groepen. Hierbij kan men denken aan het identificeren van draadvormers in het slib die drijfslagen kunnen vormen in de bezinkingstank. Door deze draadvormers in een vroeg stadium te identificeren kan men gericht maatregelen treffen om de groei van draadvormers in toom te houden, denk hierbij aan de juiste chemicaliëndosering (nadat procesmatige maatregelen zijn uitgeput).

➤ Soort-specifieke analyse met DNA-technieken wordt door u ingeschat als:



➤ Het identificeren van specifieke soorten met DNA-technieken zou als volgt moeten bijdragen aan de analyses in waterzuiveringen:(Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (4))



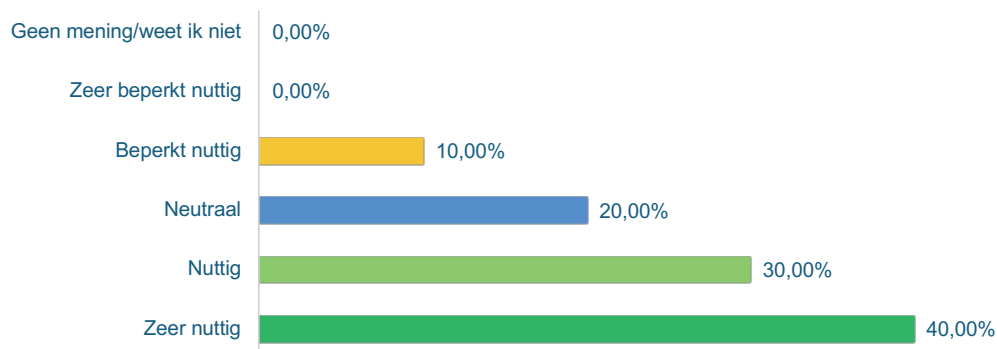
2.3.2 Identificatie functionele genen

Naast soortenidentificatie kunnen DNA-technieken ook worden ingezet om functionele genen te identificeren, bijvoorbeeld de aanwezigheid van antibioticaresistentie. Aan de hand van een voorbeeld over het identificeren van functionele genen (zie [box](#)) is vervolgens gevraagd of deze techniek als een nuttige toevoeging wordt gezien. Over het algemeen zien deze waterbeheerders dit als een nuttige toepassing, die vooral moet bijdragen aan het in kaart brengen van mogelijke gezondheidsrisico's (aanwezigheid van ziekteverwekkers/antibioticaresistentie).

➤ IDENTIFICATIE FUNCTIONELE GENEN

Locaties waar veel antibiotica worden gebruikt (bijvoorbeeld ziekenhuizen) kunnen ook veel bacteriën met antibioticaresistentie verspreiden. Andere bacteriën in bijvoorbeeld RWZI's kunnen deze resistentie overnemen via horizontale gentransfer. Hierdoor kunnen RWZI's een potentiële hot-spot worden voor antibioticaresistente genen, wat mogelijke gezondheidsrisico's oplevert wanneer deze resistentie zich verder in het milieu verspreid. Naast dat met DNA-technieken taxonomische informatie kan worden verzameld, kunnen ook specifieke eigenschappen van organismen in kaart worden gebracht aan de hand van hun functionele genen. Zo kan bijvoorbeeld antibioticaresistentie worden geïdentificeerd en gekwantificeerd. Hierdoor geven DNA-technieken inzicht in het risico voor de verspreiding van antibioticaresistentie via afvalwater en afvalwaterzuiveringen.

➤ Bronidentificatie met DNA-technieken wordt door u ingeschat als:



➤ De toepassing van functionele genen met DNA-technieken zouden als volgt moeten bijdragen aan de analyses in waterzuiveringen:



2.4 VERVOLGSTAPPEN VOOR INTEGREREN REGULIERE MONITORING

Om de kansen voor het integreren van DNA-technieken te vergroten moet volgens de afvalwaterbeheerders meer worden ingezet op het uitvoeren van pilotstudies en voorlichting over de beschikbare technieken. Ook wordt aanvullend fundamenteel onderzoek als noodzakelijk geacht om DNA-technieken in te kunnen zetten voor het beantwoorden van vragen die momenteel relevant zijn voor. Subsidiemogelijkheden en ruimte in wet en regelgeving worden als minder relevant gezien voor het inzetten van DNA-technieken.

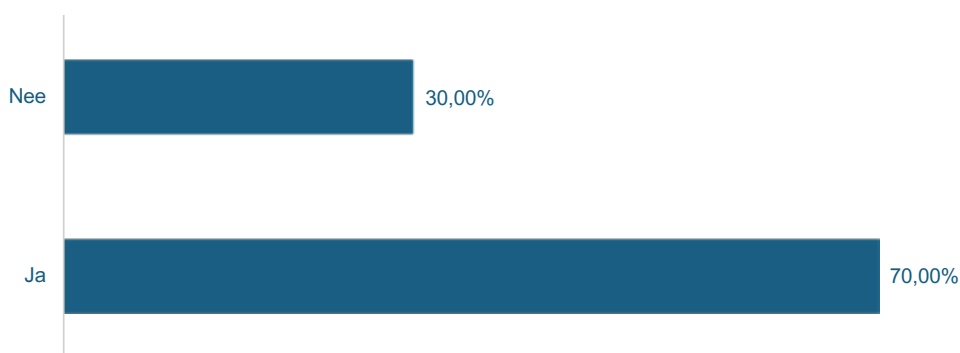
➤ **Wat is volgens u nodig om nieuwe technieken (zoals DNA-technieken) te integreren in het reguliere waterbeheer: (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (5))**



2.5 VOORLICHTING

Bij de afvalwaterbeheerders is het inzicht in de biologische samenstelling van waterzuiveringen beperkt. Ze zijn op de hoogte dat DNA-technieken hier een bijdrage aan kunnen leveren maar hebben maar beperkte kennis en ervaring met het gebruik van deze techniek. 70% van de geënquêteerde waterbeheerders heeft aangegeven interesse te hebben in een basiscursus DNA voor waterbeheerders.

➤ **Zou u geïnteresseerd zijn in een basiscursus DNA in het waterbeheer?**





BIJLAGE 3 WATERKETEN

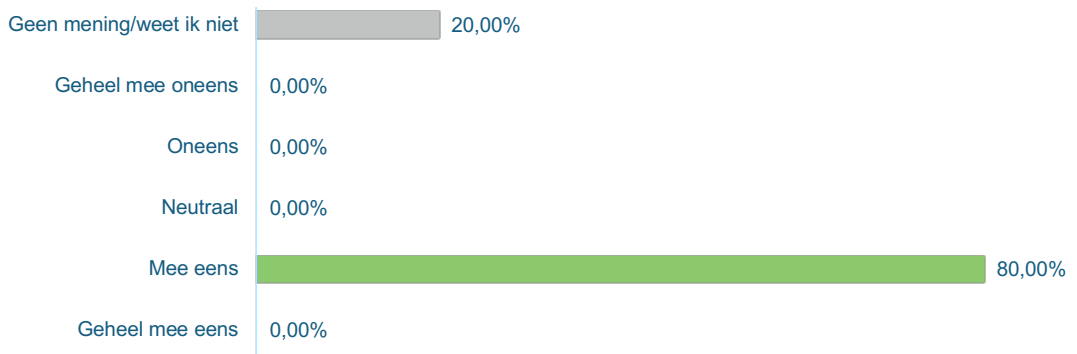
Voor het STOWA-domein waterketen hebben 5 waterketenbeheerders van 5 verschillende waterschappen de enquête DNA-technieken in waterbeheer ingevuld. Aanvullend zijn er voor het domein waterketen verschillende interviews afgenomen met experts bij de verschillende waterschappen die ook hebben deelgenomen aan deze enquête.

3.1 DOELEN EN AMBITIES VAN DNA-MONITORING

De geënquêteerde waterbeheerders gaven aan dat DNA-technieken een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan onze kennis over de waterketen. DNA-technieken moeten voornamelijk worden ingezet om inzicht te krijgen in de mogelijke aanwezigheid van ziekteverwekkers in het afvalwater en het detecteren van illegale lozingen.



DNA-technieken zouden een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan onze kennis over de waterketen.



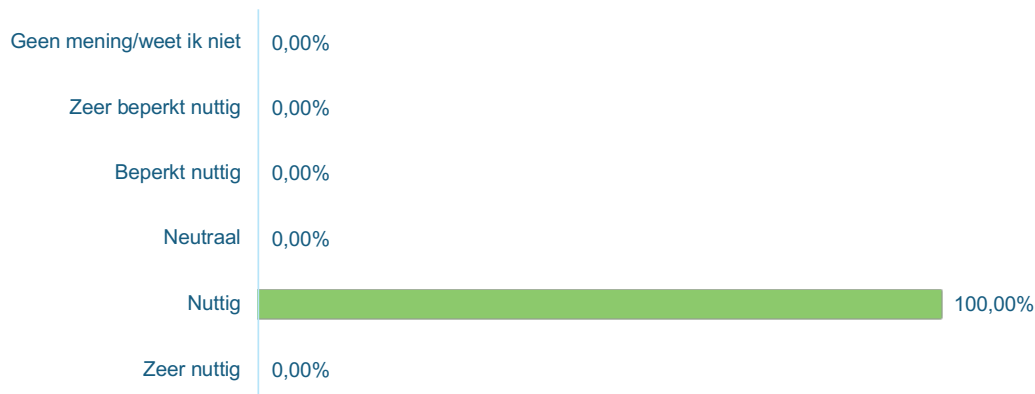
De toepassing van DNA-technieken zouden als volgt moeten bijdragen aan de monitoring van de waterketen:(Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (6))



3.2 BRONIDENTIFICATIE MET DNA-TECHNIEKEN

Bij bepaalde verontreinigingen in het rioolwater of lozingen op het oppervlaktewater, kunnen DNA-technieken worden ingezet om de bron van de lozing te achterhalen. De waterketenbeheerders zien deze toepassing van DNA-technieken als nuttig.

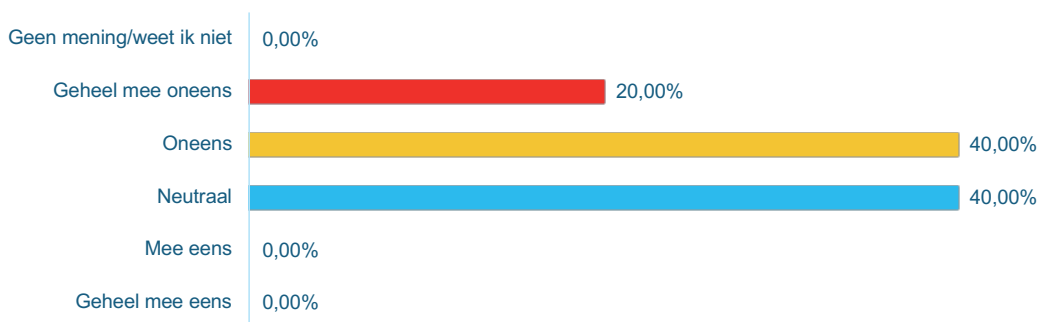
➤ **Bronidentificatie met DNA-technieken wordt door u ingeschat als:**



3.3 DNA-DATABEHEER

Wanneer DNA-technieken structureler onderdeel gaan uitmaken van het waterbeheer moet ook worden nagedacht hoe de DNA-data moet worden opgeslagen en welke partijen hier verantwoordelijk voor zijn. Momenteel zijn de waterbeheerders maar zeer beperkt op de hoogte welke ICT-infrastructuur noodzakelijk is om DNA-gegevens te beheren.

➤ **Met DNA analyses wordt een grote hoeveelheid data gegenereerd die voor het beantwoorden van meerdere vragen kan worden ingezet (bv. bronidentificatie). Hiervoor is het essentieel dat de gegenereerde data goed wordt opgeslagen en beheert, wat om bepaalde ICT-infrastructuur vraagt. Ik ben voldoende op de hoogte van de benodigde ICT-infrastructuur voor het toepassen en beheren van DNA-community data.**

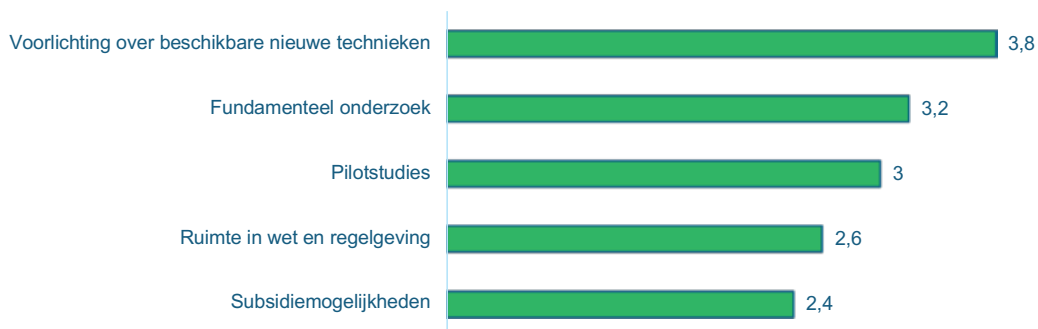


3.4 VERVOLGSTAPPEN VOOR INTEGREREN REGULIERE MONITORING

Om de kansen voor het integreren van DNA-technieken te vergroten moet volgens de waterketenbeheerders worden ingezet op een verbeterde voorlichting over beschikbare technieken en fundamenteel onderzoek worden uitgevoerd. Ook worden pilotstudies noodzakelijk geacht om DNA-technieken in te kunnen zetten voor het beantwoorden van vragen die relevant zijn voor

waterketenbeheerders. Subsidiemogelijkheden en ruimte in wet en regelgeving worden als minder relevant gezien voor het inzetten van DNA-technieken.

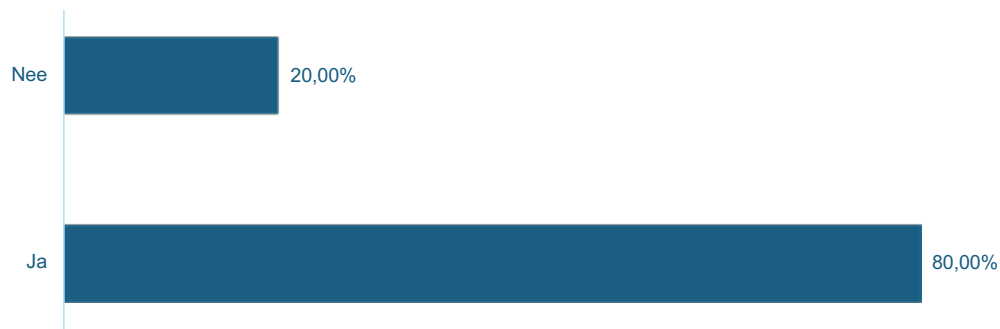
➤ **Wat is volgens u nodig om nieuwe technieken (zoals DNA-technieken) te integreren in het reguliere waterbeheer: (Rangschik onderstaande antwoorden van belangrijkste (1) naar minst belangrijk (5))**



3.5 VOORLICHTING

Bij de waterketenbeheerders is de kennis over DNA-technieken en hun toepassingen beperkt. 80% van de geënquêteerde waterbeheerders in het domein waterketen heeft aangegeven interesse te hebben in een basiscursus DNA voor waterbeheerders.

➤ **Zou u geïnteresseerd zijn in een basiscursus DNA in het waterbeheer?**





STOWA IN HET KORT

STOWA is het kenniscentrum van de regionale waterbeheerders (veelal de waterschappen) in Nederland. STOWA ontwikkelt, vergaart, verspreidt en implementeert toegepaste kennis die de waterbeheerders nodig hebben om de opgaven waar zij in hun werk voor staan, goed uit te voeren. Deze kennis kan liggen op toegepast technisch, natuurwetenschappelijk, bestuurlijk-juridisch of sociaalwetenschappelijk gebied.

STOWA werkt in hoge mate vraaggestuurd. We inventariseren nauwgezet welke kennisvragen waterschappen hebben en zetten die vragen uit bij de juiste kennisleveranciers. Het initiatief daarvoor ligt veelal bij de kennisvragende waterbeheerders, maar soms ook bij kennisinstellingen en het bedrijfsleven. Dit tweerichtingsverkeer stimuleert vernieuwing en innovatie.

Vraaggestuurd werken betekent ook dat we zelf voortdurend op zoek zijn naar de 'kennisvragen van morgen' - de vragen die we graag op de agenda zetten nog voordat iemand ze gesteld heeft - om optimaal voorbereid te zijn op de toekomst.

STOWA ontzorgt de waterbeheerders. Wij nemen de aanbesteding en begeleiding van de gezamenlijke kennisprojecten op ons. Wij zorgen ervoor dat waterbeheerders verbonden blijven met deze projecten en er ook 'eigenaar' van zijn. Dit om te waarborgen dat de juiste kennisvragen worden beantwoord. De projecten worden begeleid door commissies waar regionale waterbeheerders zelf deel van uitmaken. De grote onderzoekslijnen worden per werkveld uitgezet en verantwoord door speciale programmacommissies. Ook hierin hebben de regionale waterbeheerders zitting.

STOWA verbindt niet alleen kennisvragers en kennisleveranciers, maar ook de regionale waterbeheerders onderling. Door de samenwerking van de waterbeheerders binnen STOWA zijn zij samen verantwoordelijk voor de programmering, zetten zij gezamenlijk de koers uit, worden meerdere waterschappen bij één en het zelfde onderzoek betrokken en komen de resultaten sneller ten goede van alle waterschappen.

DE GRONDBEGINSELEN VAN STOWA ZIJN VERWOORD IN ONZE MISSIE:

Het samen met regionale waterbeheerders definiëren van hun kennisbehoeften op het gebied van het waterbeheer en het voor én met deze beheerders (laten) ontwikkelen, bijeenbrengen, beschikbaar maken, delen, verankeren en implementeren van de benodigde kennis.



STOWA

Postbus 2180
3800 CD Amersfoort

BEZOEKADRES

Stationsplein 89, vierde etage
3818 LE Amersfoort

t. 033 460 32 00
e. stowa@stowa.nl
i. www.stowa.nl

DANKWOORD

Hierbij bedanken wij de waterschappen voor hun bijdrage aan de enquête, het tegen lezen van het rapport en de afgenomen interviews.

Verder willen wij Annelies Veraart (Universiteit Nijmegen), Edwin Kardinaal (Bureau Waardenburg), Mario Pronk (RHDHV/TU Delft), Robin Biemans (STOWA), Ludolph Wentholt (STOWA) en Bas van der Wal (STOWA) bedanken voor de inhoudelijke discussies die hebben bijgedragen tot dit rapport.



COLOFON

Uitgave

Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer | Postbus 2180 | 3800 CD Amersfoort

Auteurs Niels Schoffelen en Roel Knobon

Projectleider Roel Knobon

Design Shapeshifter.nl

Trefwoorden

DNA, monitoring, innovatie, watersystemen, afvalwatersystemen, waterketen, waterwieren, metagenomics, proteomics, metabarcoding, sequencing, toestand & diagnose oppervlaktewater, gezondheidsrisico's, rioolvreemde stoffen, biodiversiteit, plaagsoorten, zuiveringsrendementen, rioolstelselbeheer, dijkstabiliteit.

Referaat

DNA-technieken kunnen de monitoring in het waterbeheer drastisch veranderen. Vanuit een behoefte-inventarisatie bij de waterschappen zijn per domein (watersystemen, afvalwatersystemen, waterketen en waterwieren) relevante thema's geïdentificeerd waar DNA-technieken voor kunnen worden toegepast. Per domein is vervolgens uiteengezet in hoeverre de DNA-technieken al kunnen worden ingezet in de praktijk of welke tussenstappen noodzakelijk zijn om dit te realiseren. Gebaseerd op deze inventarisatie is een DNA-visie opgesteld voor de implementatie van DNA-technieken in het waterbeheer.

De belangrijkste bevindingen zijn:

- DNA-technieken bieden via een gedeelde methoden kansen voor een betere samenwerking tussen de verschillende waterbeheerdomeinen.
- Een basis cursus DNA voor waterbeheerders is een goed startpunt voor de ontwikkeling van een DNA-monitoringsprogramma.
- Het inzetten van DNA-technieken vraagt om standaard protocollen, zodat deze opschaalbaar zijn en kostenefficiënt.

Wijze van citeren

Schoffelen, N. J. en R.A.E. Knobon, 2020. DNA-technieken in het waterbeheer. STOWA rapport 2020-28.

STOWA-rapportnummer 2020-28

ISBN 978.90.5773.890.6

Copyright

De informatie uit dit rapport mag worden overgenomen, mits met bronvermelding. De in het rapport ontwikkelde, dan wel verzamelde kennis is om niet verkrijgbaar. De eventuele kosten die STOWA voor publicaties in rekening brengt, zijn uitsluitend kosten voor het vormgeven, vermenigvuldigen en verzenden.

Disclaimer

Dit rapport is gebaseerd op de meest recente inzichten in het vakgebied. Desalniettemin moeten bij toepassing ervan de resultaten te allen tijde kritisch worden beschouwd. De auteurs en STOWA kunnen niet aansprakelijk worden gesteld voor eventuele schade die ontstaat door toepassing van het gedachtegoed uit dit rapport.

stowa

STICHTING
TOEGEPAST ONDERZOEK WATERBEHEER

stowa@stowa.nl www.stowa.nl
TEL 033 460 32 00 FAX 033 460 32 01
Stationsplein 89 3818 LE AMERSFOORT
POSTBUS 2180 3800 CD AMERSFOORT

