

Werkgroep eDNA van het Netwerk Groene Bureaus

16 jan 2025

Reactie van de werkgroep eDNA van het Netwerk Groene Bureaus op de "Wijziging Omgevingsregeling eDNA als erkende maatregel"

De eDNA werkgroep van het NGB stelt vast dat de voorgestelde wijziging in de Omgevingsregeling - het aanwijzen van 'soortenDNA' als erkende maatregel voor de zorgplicht uit de Omgevingswet - niet (in de huidige vorm) kan worden doorgevoerd. Ons grootste bezwaar is de onderbouwing van de ministeriële regeling met conclusies die worden getrokken (uit de onderzoeken van Datura en Unitura/Arcadis) die niet worden ondersteund door de data uit die onderzoeken. Ook ontbreken de randvoorwaarden om de methode veilig en succesvol toe te passen. De beoogde inzet van de eDNA methode vormt daarmee een risico voor de staat van instandhouding van verschillende soorten vleermuizen.

In de voorliggende onderzoeken is voldoende bewezen dat de eDNA methodiek betrouwbaarder is dan huidig protocollair onderzoek m.b.t. het detecteren van zomer- en paarverblijfplaatsen van gewone- en ruige dwergvleermuis in de spouw van grondgebonden woningen in de zomerperiode. Maar de huidige regeling is breder ingestoken dan dat:

1. In de voorgestelde ministeriële regeling wordt verondersteld dat uit de onderzoeken blijkt dat de eDNA methode een bewezen effectieve methode is om 'de aanwezigheid van [alle soorten] vleermuizen in of het gebruik door vleermuizen van de thermische schil [dus alle buitenste gebouwdelen] van een gebouw' jaarrond vast te stellen.
2. Hoewel ook duidelijk wordt gemaakt dat de voorliggende regeling op detectie van vleermuizen gericht is, wordt de methode 'soortenDNA' bovendien breder omschreven: 'soortenDNA (eDNA): methode van onderzoek voor de aanwezigheid van vleermuizen of andere beschermde soorten in de thermische schil van gebouwen.'

Daarmee gaat de regeling veel verder dan op basis van de uitkomsten van de onderzoeken mogelijk is. Uit de voorliggende onderzoeken blijkt niet dat de eDNA methodiek werkt voor detectie van verblijfplaatsen van *alle soorten* vleermuizen en ook niet dat de methode *jaarrond* betrouwbaar ingezet kan worden. Daarnaast is de eDNA methode niet getest en ontworpen voor detectie van vleermuisverblijfplaatsen in de *gehele thermische schil* van een gebouw. Ten slotte is detectie van soorten anders dan vleermuizen niet getest. Er zijn dus een aantal belangrijke kwesties nog niet voldoende onderzocht.

Zolang dat het geval is, vormt de brede (landelijke en jaarronde) inzet van de eDNA methode een groot risico voor vleermuizen. Er zijn kaders en randvoorwaarden nodig voor de inzet van de methode om die risico's te beperken.

De voorgestelde regeling bevat echter nauwelijks toepassingskaders om deze risico's te beperken of om de kwaliteit van bemonstering, analyse en interpretatie te waarborgen. Ook worden de voorliggende onderzoeken te optimistisch geïnterpreteerd. De NGB eDNA werkgroep stelt daarom vast dat de regeling in de huidige vorm niet kan worden doorgevoerd.

We maken ons ook zorgen over de wijze waarop de regeling tot stand is gekomen. Daarbij zijn onafhankelijke deskundigen op het gebied van eDNA en (vleermuis)ecologie onvoldoende geraadpleegd, te laat geraadpleegd en is er ook onvoldoende rekening gehouden met belangrijke inhoudelijke bezwaren die al sinds het voorjaar van 2024 aan het ministerie van BZK/LNV/de Taskforce natuurvriendelijk isoleren kenbaar gemaakt zijn.

We zijn echter wel degelijk een voorstander van het (verder) ontwikkelen en beperkt inzetten van eDNA methodiek om vleermuisverblijven op te sporen: het is een zeer beloftevolle techniek en er zijn mooie stappen gezet met betrekking tot de ontwikkeling van de methode. De wetenschappelijke kennis is op dicht moment echter nog onvoldoende ver ontwikkeld om op de in de regeling voorgestelde wijze toe te passen. Daarom denken we ook hardop mee over mogelijkheden om de techniek op beperkte schaal toe te passen en over de randvoorwaarden en kaders die daarvoor belangrijk zijn.

1. Leemten in kennis

Wij constateren vijf belangrijke kennisleemten:

1. Het is niet aangetoond dat de eDNA detectie als methode jaarrond inzetbaar en jaarrond betrouwbaar is. Zie bijlage punt 4.
2. Het is niet aangetoond dat eDNA detectie betrouwbaar is met betrekking tot de detectie van zeldzamere soorten vleermuizen (anders dan gewone- en wellicht ruige dwergvleermuis). Zie bijlage punt 3 en 5.
3. Het is niet aangetoond dat eDNA detectie betrouwbaar is met betrekking tot het opsporen van verblijfplaatsen in de gehele thermische schil: het is niet aangetoond dat de methode betrouwbaar is voor gebouwdelen anders dan de spouwmuur (en gevel) en in gebouwen anders dan grondgebonden woningen (van twee tot drie verdiepingen hoog). Zie bijlage punt 6.
4. Het is niet aangetoond dat eDNA detectie betrouwbaar is met betrekking tot de detectie van bijzondere verblijfplaatsen (kraam- en winterverblijven). Er bestaat nog onzekerheid over wanneer (in welke periode) deze verblijven betrouwbaar te detecteren zijn met eDNA detectie. Zie bijlage punt 7.
5. Het is uiteraard ook niet aangetoond dat (want ook niet onderzocht of) eDNA detectie kan worden ingezet voor gebouwbewonende soorten anders dan vleermuizen - zoals huismus en gierzwaluw. Zie bijlage punt 9.
 - a. De regeling heeft weliswaar enkel betrekking op de inzet van de techniek voor vleermuizen, maar: als er geen rekening wordt gehouden met het voorkomen van verblijfplaatsen van andere gebouw bewonende soorten vormt het toepassen van de eDNA techniek voor vleermuizen zonder aanvullend ecologisch onderzoek een risico voor o.a. gebouw bewonende soorten vogels (b.v. huismus en gierzwaluw) of zoogdieren (b.v. steenmarter)

2. Risico's

De voorgestelde regeling houdt te weinig of geen rekening met bovenstaande en andere kennisleemten en erkent ook niet dat deze zaken nog onvoldoende onderzocht zijn. Daarmee vormt het doorvoeren van de regeling een groot risico met betrekking tot de staat van instandhouding van vleermuizen en andere gebouw bewonende soorten die beschermd zijn onder de Nederlandse en Europese natuurbeschermingswetgeving:

1. Jaarronde inzet van eDNA detectie vormt een risico (zie kennisleemte 1 hierboven).
2. Inzet van eDNA detectie voor zeldzamere soorten vleermuizen vormt een risico (zie kennisleemte 2 hierboven).
3. Inzet van eDNA detectie voor het aantonen van verblijfplaatsen buiten de spouw vormt een risico (zie kennisleemte 3 hierboven).
4. Inzet van eDNA detectie in de actieve periode van vleermuizen vormt een risico m.b.t. bijzondere verblijfplaatsen (kraam- en winterverblijven) (zie kennisleemte 4 hierboven).
5. eDNA detectie van soorten anders dan vleermuizen is niet onderzocht. Dit vormt een risico als de eDNA techniek voor vleermuizen wordt ingezet zonder daarnaast aanvullend onderzoek te doen naar andere gebouw bewonende soorten (zie kennisleemte 5 hierboven).

Ten slotte zien we ook risico's die niet zozeer voortkomen uit de genoemde kennisleemtes, maar die ontstaan bij de uitvoering:

6. Risico's ten aanzien van bemonstering:
 - a. Het uitvoeren van bemonstering door partijen met weinig ecologische kennis en vleermuisdeskundigheid vormt een risico. Als niet alle potentiële invliegopeningen worden meegenomen is de methode niet betrouwbaar.
 - b. Het uitvoeren van bemonstering door partijen die belang hebben bij een negatieve uitslag vormt een risico. Bewust of onbewust kan daardoor de kwaliteit van bemonstering of verdere analyse van de monsters beïnvloed worden (b.v. wanneer snelheid belangrijker blijkt dan nauwkeurige bemonstering)
7. Risico's ten aanzien van bemonstering en analyse: op dit moment is nog onvoldoende inzichtelijk gemaakt hoe gegarandeerd of ingeschat kan worden dat de bemonstering of de analyse in het lab goed is uitgevoerd, ook dat vormt een groot risico.

Versterking van vastgestelde risico's door 'nieuwheid' van de techniek

Om de kwaliteit van bemonstering, analyse en interpretatie van de resultaten te garanderen én te kunnen controleren (door bevoegd gezag) zijn richtlijnen nodig. Dat is in dit geval extra prangend, want eDNA detectie op basis van lucht- en oppervlaktemonsters is een nieuwe ontwikkeling:

1. eDNA detectie wordt al lange tijd (10-20) jaar ingezet in de aquatische context (eDNA detectie van vissen en amfibieën). Gedurende deze periode is de techniek geoptimaliseerd en verfijnd.
2. eDNA detectie op basis van lucht of oppervlakte monsters is echter nog maar weinig gebruikt en getest. Ook voor de detectie van niet aquatische (zoog)dieren is eDNA detectie nog nauwelijks ontwikkeld. Omdat deze nieuwe eDNA toepassing qua bemonstering, type monster (bronmateriaal van het eDNA) en soortgroepen nog onvoldoende is uitontwikkeld, is het van extra groot belang dat validatie onderzoek t.a.v. bemonstering, extractie en analyse grondig is én dat er voldoende controlegroepen of controlemetingen worden meegenomen wanneer de methode wordt toegepast.
3. De noodzaak voor strakke en volledige protocollen met randvoorwaarden (b.v. verplichte opname van bepaalde controlegroepen of controlemonsters) is dus extra groot omdat de techniek nieuw is.

Versterking van bestaande risico's door schaalvergroting

Omdat het jaarrond toepassen van deze techniek is bedoeld om een flinke inhaalslag te gaan maken met betrekking tot na-isolatie (op zich heel goed) worden bovenstaande risico's voor vleermuizen en andere soorten vergroot:

1. De schaalvergroting van isolatiewerkzaamheden *an sich* is al een bedreiging voor vleermuizen. Een verduurzamingsslag gaat gepaard met een flink verlies aan het aantal geschikte verblijfplaatsen.
 - a. Wanneer er geen kaders worden gesteld en er geen compenserende maatregelen worden genomen, kan door grootschalige na-isolatie van geschikte spouwen en gebouwen de hoeveelheid geschikte verblijfplaatsen en het beschikbaar leefgebied voor vleermuizen afnemen tot onder een kritieke drempelwaarde: er zijn dan simpelweg onvoldoende verblijfplaatsen beschikbaar om de huidige populaties in stand te houden.
 - b. Ook de methodes om te compenseren en mitigeren voor het verlies aan verblijfplaatsen zijn nog in ontwikkeling en in veel gevallen – met name voor zeldzamere soorten vleermuizen – nog niet bewezen effectief.
2. Wanneer de eDNA techniek voor bepaalde soorten vleermuizen toch niet zo goed werkt als nu wordt aangenomen kan dat nog grootschaligere schade aan vleermuispopulaties veroorzaken en een flink negatief effect hebben op de staat van instandhouding van vleermuissoorten. Onder andere omdat er dan vleermuizen gedood worden.
 - a. Dan worden er bovendien bestaande verblijfplaatsen over het hoofd gezien waarvoor ook niet gecompenseerd of gemitigeerd wordt. SMP-methodiek houdt hier in de regel - en in tegenstelling tot de voorliggende regeling - ook rekening mee door overcompensatie voor het geschatte verlies aan verblijfplaatsen.

3. Wat gaat er goed?

Allereerst: Het is heel goed dat er onderzoek is gedaan naar eDNA detectie als beloftevolle, kosteneffectieve en snelle methode waarmee vleermuizen opgespoord en dus beschermd kunnen worden én waarmee de nationale isolatiedoelstelling gehaald kan worden.

We snappen de problematiek rond na-isolatie en verduurzaming, en dat ecologisch onderzoek een knelpunt vormt. We erkennen dat er hele nuttige stappen gezet zijn om daar een oplossing voor te ontwikkelen door de onderzoeken naar eDNA detectie van vleermuizen.

Ten tweede: Ook de huidige standaardmethodiek (onderzoek volgens Vleermuisprotocol) heeft duidelijke tekortkomingen. Het is wel goed om te beseffen dat deze tekortkomingen bekend en erkend zijn én dat deze tekortkomingen ook deels opgevangen (kunnen) worden met aangepast advies of alternatieve werkwijzen zoals bijvoorbeeld:

- Het opstellen van en werken volgens Soortenmanagementplannen (SMP's).
- Het werken buiten kwetsbare periodes van vleermuizen of andere soorten.
- Het volgen van 'natuurvriendelijke isolatiemethodes' zoals in de landelijke lijn Natuurvriendelijk Isoleren - waarbij panden eerst ontoegankelijk worden gemaakt voor vleermuizen.
- Kiezen voor alternatieve isolatiemethodes die minder negatieve gevolgen op vleermuizen of andere beschermde soorten hebben: niet elke spouwmuur hoeft gevuld te worden.

Ten slotte: De voorliggende onderzoeken lijken voorsnog aan te tonen dat eDNA detectie voor *sommige* soorten vleermuizen en voor *sommige* soorten verblijfplaatsen effectiever en betrouwbaarder is dan onderzoek volgens Vleermuisprotocol (in de zomerperiode). Zie bijlage punt 1. eDNA detectie kan - wanneer de techniek verder wordt ontwikkeld en onderzocht - dus wel eens veel beter werken dan onderzoek volgens Vleermuisprotocol.

N.B. De methodiek van Datura is beter beschreven en beter onderzocht dan die van Unitura/SGS en daarmee (voorsnog) betrouwbaarder. Zie bijlage punt 2.

De eDNA techniek is echter niet getest op een onafhankelijke steekproef van gebouwen, maar bij een selectie van gebouwen waarvan de spouw ofwel zeer geschikt is als vleermuisverblijf óf waarvan bekend was dat er zich een vleermuisverblijf bevond. Daarmee is het nog maar de vraag of de resultaten uit de onderzoeken ook van toepassing zijn op andere gebouwen met een ander type spouw - dus in de praktijk.

Het is daarom noodzakelijk om - wanneer de techniek wordt toegepast - ook te monitoren of de techniek in de praktijk goed werkt.

- Een eerste stap daarvoor is het bijhouden van de resultaten in een centrale (openbare) database en te monitoren of de behaalde resultaten betrouwbaar lijken (b.v. aan de hand van trefkans). Zo wordt ook validatie-data uit de praktijk verzameld. Daarbij is het belangrijk om ook steekproefsgewijs onderzoek volgens vleermuisprotocol en/of keutelonderzoek (of zenderonderzoek) uit te voeren.
- Een tweede stap is het verder uitwerken van toepassingskaders en protocollen.

Er ligt hier trouwens ook een belangrijke kans: Door het toepassen van de eDNA techniek kan waardevolle data worden verkregen over de verspreiding van (hopelijk alle) gebouwbewonende Nederlandse vleermuissoorten. Het bijhouden van de resultaten in een centrale database kan zo ook bijdragen aan betere bescherming van vleermuispopulaties. Dan moet echter na een positieve PCR test wel verdere analyse plaatsvinden om te bepalen om welke soorten vleermuizen het gaat.

4. Wat moet er beter?

De techniek zoals die nu in de regeling is voorgesteld, is nog niet uitontwikkeld, maar wordt wel als dusdanig ingezet in de voorliggende regeling.

Vooralsnog is eDNA detectie van vleermuisverblijven:

- 1) nog niet bewezen effectief jaarrond inzetbaar,
- 2) nog niet bewezen effectief inzetbaar voor alle soorten vleermuizen,
- 3) nog niet bewezen effectief of voor alle type verblijfplaatsen en
- 4) nog niet bewezen effectief voor verblijfplaatsen in alle gebouwdelen of gebouwen.

In de huidige regeling wordt de eDNA methodiek achter wel:

- 1) jaarrond ingezet voor
- 2) vrijwel alle in Nederland voorkomende soorten vleermuizen en
- 3) alle typen verblijfplaatsen in
- 4) alle gebouwdelen (de thermische schil van een gebouw).

Hierdoor wordt grote risico's genomen – met name voor vleermuizen.

Met name de onderzoeken van Unitura/Arcadis naar bijzondere soorten en de jaarronde inzetbaarheid zijn van onvoldoende kwaliteit qua zowel onderzoeksmethodiek als steekproefgrootte om de conclusies die getrokken worden (de techniek is jaarrond inzetbaar voor alle soorten vleermuizen) te ondersteunen. Maar ook op basis van het onderzoek van Datura is de voorgestelde brede inzet van eDNA detectie nog niet te verantwoorden. De onderzoekers onderschrijven dat zelf trouwens ook.

Het betreft dus waardevolle onderzoeken, maar er zijn nog te veel vragen onbeantwoord voor een brede inzet van de techniek. In het voorjaar van 2024 is al gewezen op de eerdergenoemde risico's voor vleermuizen en het risico van het uitvoeren van validatie onderzoek met een (toentertijd mogelijk) te beperkte steekproefgrootte of scope. Dat is gebeurd tijdens gesprekken van leden van de eDNA werkgroep (vanuit Waardenburg Ecology) en andere deskundigen met BZK/LNV/de Taskforce natuurvriendelijk isoleren. Tijdens consultatie van de eDNA werkgroep en andere partijen door het ministerie van VRO en LVVN in december 2024 is dat nogmaals gebeurd.¹

Ten slotte is in de huidige regeling de kwaliteit van bemonstering, analyse en interpretatie van de resultaten niet goed gewaarborgd. We vinden dat er beter gekeken moet worden naar specifieke eisen die worden gesteld ten aanzien van bemonstering en analyse – zoals verslaglegging van bemonstering en het meenemen van specifieke controlematen.

¹ Er is in het voorjaar van 2024 ook een oplossing aangedragen in de vorm van een projectvoorstel: ter verbreding en versnelling van het validatie-onderzoek (dat ondertussen is uitgevoerd) is aanvullend onderzoek voorgesteld door een samenwerkingsverband van branche-partijen (Waardenburg Ecology, Unitura, SGS, Datura, Sylphium, Peter Twisk, Insuproducts). Daarin is aangegeven dat meer en breder onderzoek wenselijk was om zo o.a. de steekproefgrootte van lopende onderzoeken te vergroten en standaardisatie van eDNA detectie te ontwikkelen. Uiteindelijk heeft een deel van deze partijen uiteraard nog wel onderzoek gedaan, maar is het projectvoorstel van dit samenwerkingsverband niet ondersteund. Ook tijdens consultatie door o.a. VRO in december hebben verschillende partijen (waaronder enkele vleermuisdeskundigen en onze werkgroep) aangegeven evt. in een samenwerkingsverband mee te kunnen werken aan verbetering van de eDNA methode en het scheppen van randvoorwaarden voor het veilig toepassen de techniek.

5. Op welke manier kan het wel?

Zoals in de regelingswijziging staat beschreven, komt deze deels voort uit de wens van “het beschermen van beschermde diersoorten”. Om dat te bewerkstelligen zal er echter veel beter rekening moeten worden gehouden met de onder kop 1 en in de bijlage beschreven kennisleemten en de onder kop 2 benoemde risico's. Er zal bovendien zo snel mogelijk onderzoek moeten worden gedaan om deze kennisleemten op te vullen.

Verderop dragen we per risico een mogelijke oplossing aan. Het betreft een vorzet die nadere uitwerking vraagt. Onafhankelijk vleermuis- en eDNA deskundigen dienen te worden geraadpleegd om richtlijnen en kaders te scheppen.

Totdat de risico's voldoende zijn afgedekt of onderzocht zou de eDNA methode beperkt moeten worden ingezet én zou de methode tegelijkertijd verder onderzocht moeten worden - zodat een bredere toepassing van eDNA detectie binnen afzienbare termijn wel uitgerold kan worden.

Op die manier kan in principe binnen een jaar de laatste stap worden gezet om de eDNA methodiek ook echt te valideren en daarmee de grootste risico's met betrekking tot openstaande vragen (Werkt de eDNA methode voor alle soorten? Alle verblijfplaatsen? Jaarrond?) in te schatten, zodat daar ook rekening mee kan worden gehouden bij het stellen van randvoorwaarden voor de inzet van de techniek.

Maar het is ook al mogelijk om op kortere termijn een aantal kaders te scheppen waarmee sommige van de potentiële risico's worden beperkt, o.a. in de uitvoering.

Kwaliteit van bemonstering en analyses waarborgen

Er dient een praktijkrichtlijn te worden opgesteld die het mogelijk maakt om de kwaliteit van bemonstering, analyse en interpretatie van de resultaten te garanderen en (evt. door bevoegd gezag) te controleren.

eDNA detectie bestaat grofweg uit drie onderdelen die daarin belangrijk zijn:

- Bemonstering en preservatie van het monster
- Extractie (DNA uit het monster halen)
- Analyse (qPCR en/of sequencing zoals meta-barcoding)

Van al deze stappen moet zo goed mogelijk worden gewaarborgd dat die succesvol verlopen zijn – alleen dan is het eindresultaat (wel/geen vleermuisverblijf) betrouwbaar. De protocollen die in de voorliggende onderzoeken zijn beschreven, zijn nog niet gedetailleerd genoeg om te kunnen controleren of deze stappen ook echt succesvol verlopen zijn óf om vast te stellen of een soortgelijke techniek - ingezet door een andere partij - even betrouwbaar is.

Er wordt in voorliggende onderzoeken wel verwezen naar de gevaren (b.v. in het onderzoek van *Datura*: “*Hou er echter rekening mee dat er verlies van DNA kan optreden bij het bevriezen en ontdooien van DNA.*”). Maar als er niet gedetailleerder wordt beschreven hoe preservatie is gewaarborgd en gecontroleerd wordt, valt ook niet te controleren of bemonstering en analyse met de beschreven methode (of één van vermoedelijk “gelijke geschiktheid”) ook echt betrouwbaar is. De nu beschreven methodes van Unitura/SGS vs. *Datura* kunnen niet eens in detail met elkaar vergeleken worden.

Met een uitgebreidere beschrijving van de lab-protocollen die gebruikt zijn kan dat wel. Het beste zou het zijn om alle details - de gebruikte primers, controlemetingen en lab-protocollen - te delen, al ligt dat vermoedelijk gevoelig. Als dat niet lukt kan deels met

documentatie van in het lab uitgevoerde validatietests gewaarborgd worden dat een ingezette methode voldoet aan de nu nog onduidelijke kwaliteitseisen.

Een aanzet voor oplossingen

Risico 1: Jaarronde inzet van eDNA detectie (zie kennisleemte 1, bijlage punt 4).

Oplossing korte termijn: De methode nu eerst uitsluitend inzetten in de actieve periode voor vleermuizen (maar zie ook risico 4 hieronder).

Oplossing lange termijn: Gedegen en voldoende onderzoek uitvoeren naar de afbraaksnelheid van eDNA en naar de detecteerbaarheid van vleermuisverblijfplaatsen door het jaar heen (dus detectie van zomer-, paar- en kraamverblijven op verschillende tijdstippen in de winter, en winterverblijven in de zomer).

Risico 2: Inzet van eDNA detectie voor zeldzamere soorten vleermuizen vormt een risico (zie kennisleemte 2, bijlage punt 5).

Oplossing voor korte termijn: De techniek niet toepassen wanneer het mogelijk is dat soorten anders dan gewone en ruige dwergvleermuis verblijfplaatsen in een woning hebben. Dit kan worden vastgesteld met een ecologische quickscan. In veruit de meeste gevallen zal dit echter niet uitgesloten kunnen worden.

Oplossing korte én lange termijn: Zo snel mogelijk retrospectief onderzoek uitvoeren naar bekende verblijfplaatsen van zeldzamere vleermuissoorten – waarbij deze keer blind bemonsterd wordt. Daarbij dienen alle type verblijfplaatsen en alle type invliegopeningen in de gehele thermische schil onderzocht te worden.

Risico 3: Inzet van eDNA detectie voor het aantonen van verblijfplaatsen of invliegopeningen anders dan de te isoleren spouw vormt een risico (zie kennisleemte 3, bijlage punt 6).

Oplossing korte termijn: De methode enkel inzetten voor onderzoek naar verblijfplaatsen van vleermuizen in de spouw van een woning. Daarbij ook naastgelegen woningen en kopgevels van woonblokken bemonsteren!

Er dient daarnaast een inschatting te worden gemaakt van het risico dat vleermuizen via invliegopeningen anders dan die in de gevel of in de betreffende woning alsnog in de te isoleren spouw terecht kunnen komen (in dat geval is het bemonsteren van de gevel van de te isoleren woning namelijk niet afdoende). Bijvoorbeeld in het geval van rijtjeswoningen: invliegen bij de burens, verblijven in de betreffende spouw. Dat kan wederom met een ecologische quickscan.

Oplossing lange termijn: Gedegen en voldoende onderzoek uitvoeren naar de betrouwbaarheid van eDNA bemonstering als detectiemethoden voor verblijfplaatsen en invliegopeningen die zich niet in de spouw bevinden.

Risico 4: Inzet van eDNA detectie binnen de actieve periode van vleermuizen vormt een risico m.b.t. bijzondere verblijfplaatsen (kraam- en winterverblijven) (zie kennisleemte 4, bijlage punt 7).

Oplossing voor korte termijn #1: De periode waarin eDNA detectie mag worden ingezet beperken: van (half) juli tot en met september (oktober). Maar zie ook korte termijn oplossing #2 en #3.

Oplossing voor korte termijn #2: De bestaande data opnieuw analyseren om te kijken of de detectiekans van de onderzochte verblijfplaatsen afhankelijk is van het tijds punt waarop bemonsterd wordt binnen de actieve periode van vleermuizen.

Oplossing voor korte termijn #3: Snel retrospectief onderzoek doen naar de betrouwbaarheid van de methode voor de detectie van verblijven en winterverblijven door het jaar heen. Dus bekende verblijfplaatsen door het jaar heen bemonsteren, en in ieder geval vroeg in de actieve periode van vleermuizen ook kraamverblijven bemonsteren.

- Met name de eerste maanden van de actieve periode zijn spannend: als de verblijfplaatsen nog niet in gebruik zijn genomen zijn de aanwezige sporen misschien te ver vergaan. Hier kan dus al vanaf maart/april/mei mee gestart worden.

Oplossing voor de korte lange termijn: Gedegen en voldoende onderzoek uitvoeren naar de betrouwbaarheid van eDNA bemonstering als detectiemethode voor bijzondere verblijfplaatsen (kraam- en winterverblijven) gedurende verschillende maanden binnen de actieve periode.

Risico 5: eDNA detectie van soorten anders dan (dwerg)vleermuizen is niet onderzocht, ook dit vormt een risico als de eDNA detectie voor vleermuizen wordt ingezet zonder verder rekening te houden (zie kennisleemte 5, bijlage punt 9).

Oplossing voor korte termijn: Met een ecologische quickscan kan worden bekeken of er zich verblijfplaatsen van huismus en gierwaluw of andere beschermde diersoorten in of op de spouw kunnen bevinden, of in de thermische schil van een gebouw. Als dat het geval is, nader ecologisch onderzoek uitvoeren volgens de richtlijnen zoals die staan beschreven in de kennisdocumenten huismus en gierwaluw van BIJ12 of volgens huidige standaardmethodiek voor andere soorten.

Oplossing voor de lange termijn: Gedegen en voldoende onderzoek uitvoeren naar de betrouwbaarheid van eDNA bemonstering als detectiemethode voor verblijfplaatsen van beschermde soorten anders dan vleermuizen.

Risico 6: Risico's ten aanzien van de bemonstering: het uitvoeren van bemonstering door partijen met te weinig ecologische kennis en/of die een belang hebben bij een negatieve vormt een risico.

Oplossing voor korte termijn: Bemonstering vooralsnog uit laten voeren door onafhankelijke ecologische deskundigen met verstand van eDNA én vleermuizen, ringtesten uit laten voeren door 'eDNA labs'.

Oplossing voor korte/lange termijn: Methodiek ontwikkelen waarmee beter gegarandeerd en gecontroleerd kan worden dat bemonstering goed is uitgevoerd. Door verslaglegging met foto's van de bemonsterde woningen, een openbare database waarin de resultaten van eDNA bemonstering worden bijgehouden en door beter omschreven kaders en eisen waaraan de analyse moet voldoen. Ringtesten uit laten voeren door 'eDNA labs'. Zie ook risico 7 hieronder.

Risico 7: Risico's ten aanzien van bemonstering en analyse: Op dit moment is nog onvoldoende inzichtelijk gemaakt hoe gegarandeerd is (in de huidige onderzoeken) of ingeschat kan worden (bij gebruik van de methode) dat de bemonstering of de analyse in het lab goed is uitgevoerd.

Oplossing voor de korte/lange termijn: Kaders, analysemethoden, protocollen en ringtesten ontwerpen waarmee de kwaliteit van de bemonstering in het lab kan worden gecheckt én waarmee de kwaliteit van de analyse kan worden gegarandeerd.

Denk bijvoorbeeld aan:

- Het steekproefsgewijs nemen van negatieve controle monsters van 'niet-invliegopeningen' (nu nog niet beschreven in de betreffende protocollen), deels ter bevestiging van de gebruikte drempelwaardes (waarmee een verblijfplaats wordt uitgesloten of niet).
- Het bepalen van geschikte drempelwaarden door het jaar heen, en per methode (want dat kan ook van specifieke technieken in de analyse afhangen – b.v. van de gebruikte primers) of zelfs per vleermuissoort (want de hoeveelheid sporen die wordt achtergelaten kan per soort verschillen).
- Het meenemen van positieve controles, zoals detectie van DNA van soorten anders dan vleermuizen dat in principe op vrijwel elke gevel aanwezig is (zeg een algemene soort vogel of insect, of zelfs 'de mens') of het toevoegen van 'DNA marker' aan het monster van een soort anders dan vleermuizen of van een niet in Nederland voorkomende vleermuissoort. Dit alles zodat gecontroleerd kan worden of bemonstering correct is uitgevoerd en of het monster goed gepreserveerd is.

N.B. Vier relevante kwaliteitskenmerken van de test zijn erg belangrijk, wanneer een partij de 'soortenDNA' methodiek inzet moeten deze kwaliteitskenmerken gewaarborgd zijn:

1. Gevoeligheid: de test dient voldoende gevoelig te zijn om lage concentraties effectief op te zuiveren (extractie) en te detecteren.
 - a. Oplossing: Specificiteit kan worden gegarandeerd aan de hand van validatie tests (gesimuleerd op de computer en/of in het lab) en documentatie.
2. Specificiteit: de test dient enkel een positief resultaat te geven bij de beoogde doelsoorten (vleermuis) en voldoende onderscheidend vermogen te hebben om verschillende in Nederland voorkomende soorten van elkaar te onderscheiden.
 - a. Oplossing: Specificiteit kan worden gegarandeerd aan de hand van een experimenten die worden gepubliceerd in een validatie rapport.
3. Juistheid: de test moet betrouwbaar zijn - de test dient in staat te zijn om vals positieve en negatieve resultaten te onderscheiden van juiste negatieve en positieve resultaten. Hiervoor is het van belang dat er voldoende positieve controlegroepen worden meegenomen tijdens elke test die de verschillende onderdelen van de test controleren.
 - a. Oplossing: Denk o.a. aan bovengenoemde negatieve ('geen invliegopening monster') en positieve controles ('DNA van indicatorsoort' of de toegevoegd DNA-marker), maar ook interne positieve en negatieve controles die worden meegenomen tijdens analyse in het lab.
4. Robuustheid: de test dient een betrouwbaar resultaat te geven onder verschillende omstandigheden (bemonsteringsobjecten/locaties). Met name de aantoonbare robuustheid ten aanzien van PCR inhiberende stoffen is hierbij van belang specifiek in de context van spouwmonsters. Het kan bijvoorbeeld zo zijn dat bepaalde stoffen uit cement inhiberen.
 - a. Oplossing: Denk ook weer aan bovengenoemde negatieve ('geen invliegopening monster') en positieve controles ('DNA van indicatorsoort' of de toegevoegd DNA-marker), maar ook interne positieve en negatieve controles in het lab.

Bijlage – Conclusies die wij trekken uit de voorliggende onderzoeken van Datura en Unitura/Arcadis.

Wat weten we?

1. Op basis van de voorliggende onderzoeken is voldoende bewezen dat de eDNA methodiek zoals beschreven in het onderzoeksrapport van Datura betrouwbaarder is dan huidig protocollair onderzoek m.b.t. het aantonen van de aanwezigheid van:
 - a. zomer- en paarverblijfplaatsen van
 - b. gewone- en (waarschijnlijk) ruige dwergvleermuis
 - c. in voor vleermuizen zeer geschikte spouwen van woningen van enkele verdiepingen waarbij de (kop)gevel bemonsterd is.
2. Op basis van de voorliggende onderzoeken is niet aangetoond dat ook de eDNA methode zoals die beschreven zijn in de rapportage van Arcadis/Unitura even betrouwbaar is als de methodiek van Datura. Dit lijkt weliswaar aannemelijk, maar is niet met voldoende zekerheid aangetoond:
 - a. Omdat het veldonderzoek volgens Vleermuisprotocol in dit onderzoek niet volledig is uitgevoerd: er is slechts in het voorjaar en de zomer protocollair veldonderzoek uitgevoerd - niet ook in de nazomer en het najaar, waardoor de effectiviteit van onderzoek volgens Vleermuisprotocol is *onderschat* (er zullen paarverblijven en andere verblijven gemist zijn) en de betrouwbaarheid van eDNA methodiek is *overschat*.
 - b. Omdat in de onderzoeken van Arcadis niet gewerkt wordt met grenswaardes of omdat niet beschreven is welke grenswaardes worden aangehouden voor de hoeveelheid aangetroffen eDNA waarbij een verblijfplaats wordt aangemerkt.
 - i. De bemonsterings- en analysemethode zoals die in het onderzoeksrapport van Datura beschreven staan zijn dus beter afgekaderd en beschreven en zijn daarmee (vooralsnog) betrouwbaarder en beter te implementeren.
 - c. De statistische analyse in het grotere validatie-onderzoek van Arcadis lijkt verkeerd te zijn toegepast of geïnterpreteerd. Er is onvoldoende beschreven hoe de test is uitgevoerd om deze te kunnen beoordelen op juiste toepassing.
 - i. Een significant verschil (zoals blijkt uit de McNemar test) duidt op een verschil tussen beide detectiemethodes (onderzoek volgens Vleermuisprotocol en eDNA detectie), niet op een overeenkomst tussen de methodes zoals de auteurs beweren (dan was het verschil niet significant).
 - ii. Dat verschil kan worden veroorzaakt door een toename van het aantal verblijfplaatsen dat gemist wordt door eDNA detectie maar wel is aangetoond met onderzoek volgens Vleermuisprotocol of juist door een toename van het aantal verblijfplaatsen dat wordt gedetecteerd met eDNA detectie maar gemist wordt door onderzoek volgens Vleermuisprotocol.
 - iii. Omdat het niet duidelijk is dat de eDNA methode ook daadwerkelijk verblijfplaatsen van vleermuizen aantoonbaar blijkt uit deze test niet dat het

risico op het missen van daadwerkelijke verblijfplaatsen met eDNA methodiek klein is of dat eDNA detectie daadwerkelijk meer verblijfplaatsen detecteert, het significante verschil zal simpelweg betekenen dat eDNA methodiek meer verblijfplaatsen lijkt te detecteren.

- iv. N.B. In het onderzoek van Datura is het aannemelijker gemaakt dan in het Arcadis/Unitura onderzoek dat eDNA detectie daadwerkelijk meer verblijfplaatsen detecteert door de inclusie van een derde methode (keutelonderzoek) en net even vollediger beschrijving van gebruikte statistische analyse. Toch zou het ook in dit geval goed zijn om het gebruikte R-script te delen en de statistische analyse volledig te beschrijven. Ook dit onderzoek voldoet niet volledig aan de wetenschappelijke standaard van openheid, en is daarmee niet volledig op de juistheid van gebruikte statistische analyse te controleren. Het is tegenwoordig gebruikelijk om bij wetenschappelijke publicaties ook simpelweg de dataset en volledige statistische analyse te openbaren.
3. We weten dat bij bekende vleermuisverblijven van soorten anders dan gewone en ruige dwergvleermuis eDNA kan worden aangetroffen wanneer daar gericht op bemonsterd wordt in bovenstaande gevallen (1a en 1c) of bij vleermuiskasten.
 - a. Het is echter niet bewezen dat de eDNA methode voor detectie van verblijfplaatsen van zeldzame vleermuissoorten ook echt betrouwbaar is: omdat er in de meeste gevallen niet blind bemonsterd is, is niet duidelijk of de bemonsteringsmethode deze verblijfplaatsen ook had opgepikt wanneer er niet gericht bemonsterd was. Betrouwbaarheid van de bemonsteringsmethode is niet steekproefsgewijs getest.

Kennisleemten en risico's - Wat weten we nog niet?

4. **Er is niet aangetoond dat de eDNA methode jaarrond inzetbaar is.** Wanneer eDNA detectie zou worden ingezet buiten de periode mei-okt is het maar de vraag of eDNA detectie betrouwbaar is met betrekking tot de detectie van verblijfplaatsen van vleermuizen (inclusief gewone- en ruige dwergvleermuis).
 - a. Dat is niet onderzocht, er is enkel in de periode mei – oktober, of eigenlijk juni-september (onderzoek Datura) bemonsterd.
 - b. In het onderzoek van Datura is voorzichtig aangetoond dat eDNA sporen over een periode van enkele maanden gedeeltelijk kunnen vergaan (zie punt 7.a.i hieronder). Het kan dus goed zijn dat na enkele (winter)maanden verblijfplaatsen niet meer detecteerbaar zijn.
 - c. Het onderzoek naar de jaarronde detectie van verblijfplaatsen dat door Unitura/Arcadis is uitgevoerd kent te veel gebreken in de onderzoeksopzet om aan te tonen dat sporen tot 13 maanden terug zijn waar te nemen – o.a. omdat hier geen grenswaarden zijn bepaald voor de hoeveelheid DNA met betrekking tot het toekennen van een verblijfplaats, omdat geen negatieve controles zijn meegenomen (gebouw[delen] die in ieder geval geen verblijfplaats van vleermuizen kunnen zijn) en omdat de steekproefgrootte van slechts drie gebouwen met eerder vastgestelde verblijfplaatsen veel te klein is.

5. **Er is niet aangetoond dat de huidige methodiek ook voor alle vlemuissoorten daadwerkelijk effectief en betrouwbaar is m.b.t. het opsporen van verblijfplaatsen.**
- a. De hoofdconclusies uit de grotere validatieonderzoeken van Datura en Unitura/Arcadis hebben enkel betrekking op gewone dwergvleermuis, ook al wordt dat niet altijd zo expliciet genoemd in de eindversies van deze rapportage (en zeker niet meegewogen in de nu voorgestelde ministeriële regeling). Er is niet voldoende data beschikbaar voor de overige soorten om iets te kunnen zeggen over de trefkans van eDNA methode voor soorten anders dan gewone dwergvleermuis, de steekproefgrootte is veel te klein. Voor ruige dwergvleermuis is aannemelijker gemaakt dat de eDNA methode goed werkt, maar ook voor deze soort is dat nog niet bewezen (wederom: kleine steekproefgrootte).
 - b. Hoewel het aannemelijk is gemaakt dat eDNA van andere soorten dan de gewone- en ruige dwergvleermuisen kan worden opgepikt met de huidige methodiek (onderzoek Datura, onderzoek Arcadis/Unitura bijzondere soorten), is het niet duidelijk dat de daadwerkelijke detectiekans voor verblijfplaatsen van deze soorten ook voldoende is. In andere woorden: er is aangetoond dat er DNA kan worden opgepikt als er gericht bemonsterd is, maar niet of de eDNA methodiek (inclusief bemonstering) ook echt betrouwbaar verblijfplaatsen van deze soorten op kan sporen.
 - i. Daarvoor is de steekproefgrootte te klein.
 - ii. Omdat er in het onderzoek van Arcadis/Unitura naar bijzondere soorten niet blind bemonsterd is, is niet duidelijk of de bemonsteringsmethode deze verblijfplaatsen ook had opgepikt wanneer er niet gericht bemonsterd was. Daarnaast is ook de steekproef uit dit onderzoek te klein om echt betrouwbare conclusies te trekken.
6. **Er is niet aangetoond dat de eDNA methodiek ook betrouwbaar is voor het aantonen van verblijfplaatsen anders dan die in de gevel/spouw, dus of de methode ook gebruikt kan worden voor het opsporen van verblijven in andere gebouwdelen dan de spouw.**
- a. Dat is simpelweg niet onderzocht: in alle voorliggende onderzoeken zijn woningen geselecteerd waarbij trefkans voor een vlemuisverblijf in de spouw hoog was (het gebouw was zeer geschikt als verblijfplaats) en bij die locaties is enkel de (kop)gevel bemonsterd.
7. **Er is niet aangetoond dat de eDNA methode - ook wanneer die enkel zou worden ingezet binnen de periode mei t/m okt - daadwerkelijk betrouwbaar is m.b.t. de detectie van bijzondere verblijfplaatsen van vlemuisen** (het betreft kraamverblijfplaatsen, satelliet-verblijfplaatsen bij een kraamverblijf of winterverblijfplaatsen, inclusief die van gewone- en ruige dwergvleermuis). Het gaat dan niet om het feit dat de eDNA methode geen onderscheid kan maken in de functie van verblijfplaatsen, dat mag duidelijk zijn. Nee: het is niet duidelijk of eDNA detectie daadwerkelijk deze bijzondere verblijfplaatsen kan opsporen middels bemonstering op elk tijdstip binnen de actieve periode - dit is niet goed onderzocht:

- a. Er zijn nauwelijks kraamverblijfplaatsen onderzocht en geen (massa)winterverblijfplaatsen. Hoewel rond deze verblijfplaatsen voldoende eDNA sporen zullen worden achtergelaten, is het niet duidelijk in welke periode van het jaar deze sporen daadwerkelijk kunnen worden aangetroffen (en dus ook niet of deze verblijfplaatsen in de gehele actieve periode zouden worden gedetecteerd).
- i. Het is namelijk niet voldoende onderzocht hoelang na gebruik van een verblijfplaats deze detecteerbaar blijft. We weten ook niet wat de afbraaksnelheid van eDNA is. Wel is in het onderzoek van Datura al voorzichtig aangetoond dat eDNA sporen over een periode van enkele maanden gedeeltelijk kunnen vergaan.
 - ii. Met name in de eerste maanden van de actieve periode (april/mei) bestaat er een risico dat kraamverblijven niet detecteerbaar zijn omdat ze nog niet in gebruik zijn genomen, en er dus geen verse sporen en eDNA is achtergelaten. Maar ook voor winterverblijfplaatsen is nog niet aangetoond dat die detecteerbaar zijn (in welke tijd van het jaar dan ook), mogelijk zijn deze verblijfplaatsen in de kraamperiode al een tijd buiten gebruik en zijn sporen en eDNA dan vergaan.
- 8. Er is niet aangetoond dat de afwezigheid van eDNA sporen ook daadwerkelijk de afwezigheid van vleermuizen aantoont.** In de onderzoeken wordt gebruik van eDNA methodiek voor het aantonen van afwezigheid wel aangeraden.
- a. Dat is overigens ook niet het geval bij het toepassen van onderzoek volgens Vleermuisprotocol of soortgelijke onderzoeksmethodes zoals die worden toegepast bij bijvoorbeeld SMP's.
 - b. Wel wordt er in dat laatste geval rekening gehouden met dit feit doordat buiten kwetsbare periodes gebouwen op een vleermuisvriendelijke manier ontoegankelijk ('ongeschikt' of natuurvrij') worden gemaakt.
- 9. Er is niet aangetoond dat eDNA methodiek ook gebruikt kan worden voor de detectie van verblijfplaatsen of aanwezigheid van beschermde gebouw- en spouwbewonende soorten anders dan vleermuizen,** zoals huismus en gierzwaluw.
- a. Dat is simpelweg niet onderzocht.
 - b. Dat de methode enkel bedoeld is voor vleermuizen wordt ook wel onderkent in de huidige regeling, maar omdat dit toch tot risico's leidt willen we het even onderstrepen. Er staat namelijk wel beschreven dat de techniek 'soortenDNA' een methode van onderzoek is 'voor de aanwezigheid van vleermuizen of andere beschermde soorten in de thermische schil van gebouwen'.
 - c. Als de techniek wordt ingezet voor vleermuizen en er daarna na-geïsoleerd wordt zonder onderzoek te doen naar b.v. huismus en gierzwaluw vormt de regeling en de inzet van de techniek alsnog een risico voor andere gebouwbezonende (beschermde) soorten.