



Sylphium

molecular ecology

Opdrachtgever:	Arcadis
Contactpersoon:	
Aantal monsters:	8
Aan te tonen organisme(s):	Grote modderkruiper
Uitgevoerd door:	

Analyserapport

Datum rapport: 16 May 2025

Inhoudsopgave

1. Materialen en methoden	3
1.1 Bemonstering en filtratie	3
1.2 eDNA isolatie	4
1.3 eDNA qPCR analyse grote modderkruiper	4
1.4 Kwaliteitswaarborging.....	4
2. Resultaten	5
3. Conclusie	6
4. Referenties	7

1. Materialen en methoden

1.1 Bemonstering en filtratie

Bemonstering en filtratie werden ter plaatse uitgevoerd door Arcadis met de SYL009 - eDNA sampling set (1). De volgende monsters zijn door Sylphium molecular ecology ontvangen (**Tabel 1**).

Monstercode	Monstertype
E4773	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4774	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4775	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4776	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4777	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4778	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4779	eDNA Dual Filter (0.8µM)
E4780	eDNA Dual Filter (0.8µM)

Tabel 1. Aangeleverde monsters.

1.2 eDNA isolatie

eDNA-isolatie en kwaliteitscontrole werden uitgevoerd volgens de handleiding en het validatierapport van de SYL002 - Environmental DNA isolation kit (2). Voor de volledige beschrijving van het isolatieproces wordt verwezen naar de webpagina van deze kit, waar de handleiding beschikbaar is om te downloaden.

1.3 eDNA qPCR analyse grote modderkruiper

De analyse en kwaliteitscontrole op grote modderkruiper-eDNA werd uitgevoerd volgens het protocol en validatierapport van SYL159 - *Misgurnus fossilis* detection kit (3). Voor de volledige beschrijving van de analyse wordt verwezen naar de webpagina van deze kit, waar de handleiding beschikbaar is om te downloaden.

1.4 Kwaliteitswaarborging

De analyses van de monsters zijn in achtvoud uitgevoerd. Een monster wordt positief bevonden als minimaal één van deze analyses een positief signaal geeft. Als controles werden gebruikt:

Source	
Rendement en inhibitiecontrole (RIC)	Aan de monsters is xenobiotisch DNA toegevoegd als controle om vals-negatieve PCR-resultaten door storende factoren in het DNA-isolaat uit te sluiten en om de isolatie-efficiëntie/DNA-afbraak (conservering) te bepalen. Indien storende factoren worden aangetroffen, wordt het experiment herhaalt met monsterverdunningen van 2x, 4x, en 8x, waarna op basis hiervan de optimale verdunning voor de grote modderkruiper-analyse wordt uitgevoerd.
Procedure-blanco	Alleen conserveringsmiddel dat alle isolatie- en analysestappen doorloopt om eventuele DNA-contaminatie tijdens de verwerking aan te tonen.
PCR-positieve controle	Grote modderkruiper-DNA is toegevoegd aan de PCR-mix om vals-negatieve PCR-resultaten door procesfouten uit te sluiten.
PCR-negatieve controle	Geen monster of DNA toegevoegd, als extra controle om vals-positieve resultaten door contaminatie uit te sluiten.

2. Resultaten

De aangeleverde monsters E4773, E4774, E4775, E4776, E4778, E4779, en E4780 gaven in minstens 1 van de 8 replica's een positief signaal voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA (**tabel 2**). Het aangeleverde monster E4777 gaf in geen van de replica's een positief signaal voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA. De positieve controles gaven in alle gevallen een positief resultaat. De negatieve controles gaven in alle gevallen een negatief resultaat. Dit geeft aan dat alle procedures goed zijn doorlopen.

Monstercode	Resultaat grote modderkruiper	Procedure blanco	Conservering controle	Inhibitie controle	PCR neg. controle	PCR pos. controle
E4773	8/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4774	8/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4775	1/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4776	2/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4777	0/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4778	4/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4779	5/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
E4780	8/8	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok

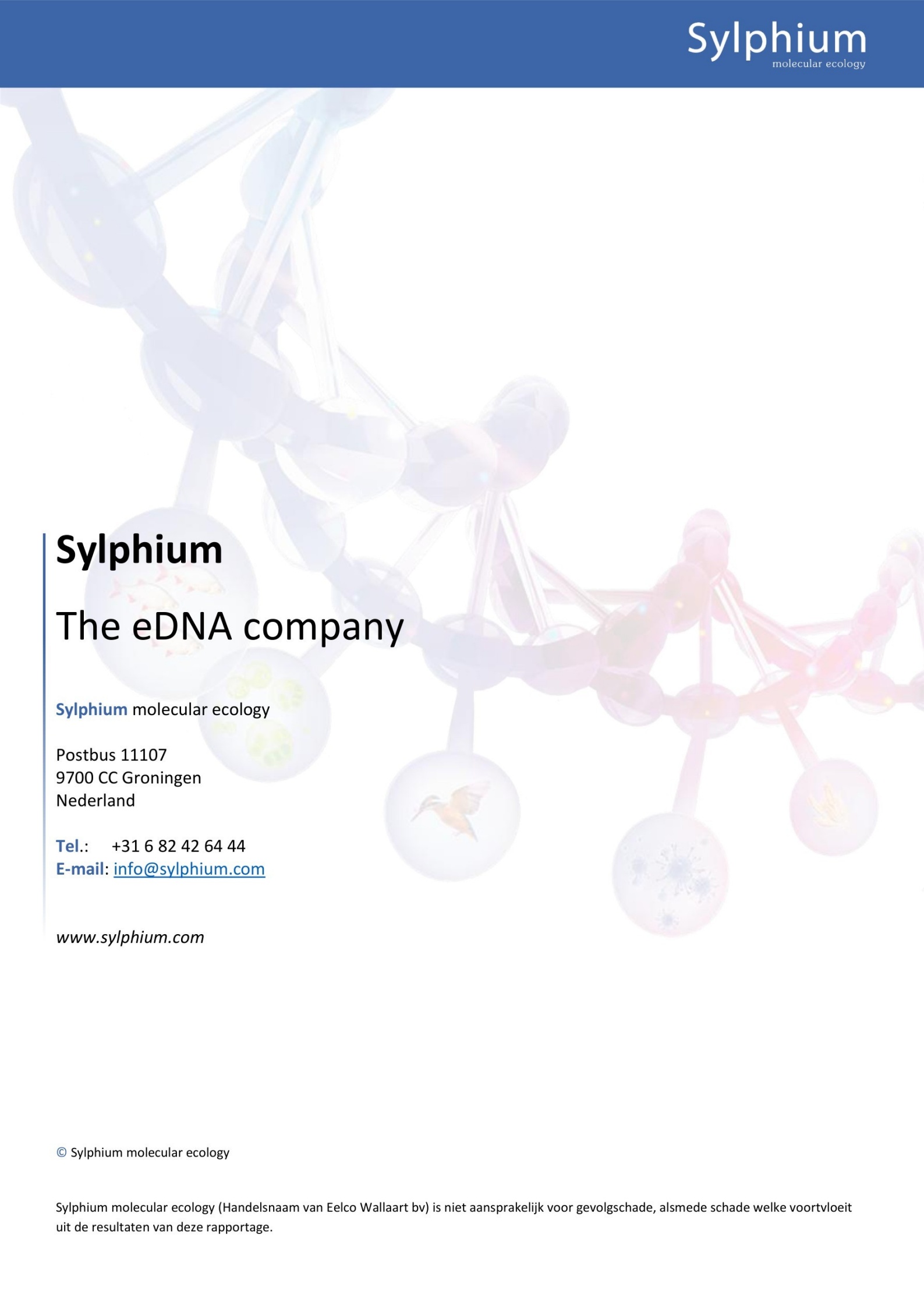
Tabel 2. PCR resultaten analyse monsters.

3. Conclusie

De aangeleverde monsters E4773, E4774, E4775, E4776, E4778, E4779, en E4780 zijn positief bevonden voor de aanwezigheid van grote modderkruiper DNA. Alle positieve controles gaven een positief resultaat en alle negatieve controles gaven een negatief resultaat. Deze controles geven aan dat er geen storende factoren/DNA-afbraak of DNA-contaminaties van de doelsoort aanwezig waren. Hiermee kunnen voor de analyseprocedures vals-negatieve en vals-positieve resultaten worden uitgesloten. Indien de bemonstering is uitgevoerd volgens de aanbevelingen zoals weergegeven in de handleiding van SYL009 - eDNA sampling set (1) kan er een trefkans van 95% behaald worden.

4. Referenties

1. <https://sylphium.com/webshop/product/syl009>
2. <https://sylphium.com/webshop/product/syl002>
3. <https://sylphium.com/webshop/product/syl159>



Sylphium

The eDNA company

Sylphium molecular ecology

Postbus 11107
9700 CC Groningen
Nederland

Tel.: +31 6 82 42 64 44

E-mail: info@sylphium.com

www.sylphium.com

© Sylphium molecular ecology

Sylphium molecular ecology (Handelsnaam van Eelco Wallaart bv) is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede schade welke voortvloeit uit de resultaten van deze rapportage.