

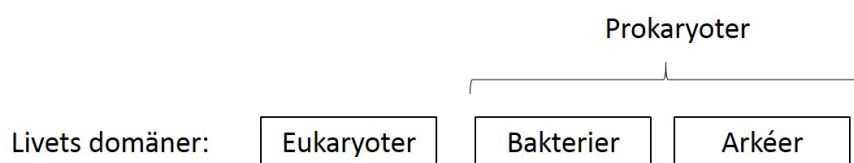
5. BIOLOGISK VATTENKVALITET

Mikroskopiskt liv

De organismer som vi kan se med blotta ögat utgör bara en liten del av det totala antalet arter på jorden. De flesta levande varelser är så små att de bara kan ses med ett mikroskop och kallas därför mikroorganismer (eller mikrober). Bland dessa små livsformer finns det de som kan orsaka sjukdom hos människor. Sådana mikroorganismer kallas patogener. Många olika typer av mikroorganismer kan vara patogener och vatten kan fungera som en smittbärare.

Några grunder om levande organismer

Om vi undantar virus så kan livet på jorden klassificeras i tre domäner: eukaryoter, bakterier och arkéer (Figur 5-1). Bakterier och arkéer kallas även prokaryoter och är encelliga organismer. Bland eukaryoterna finns det både encelliga och flercelliga organismer. Växter, djur och människor är eukaryoter.



Figur 5-1. Livets tre domäner.

Vissa grundläggande mekanismer är gemensamma för alla livsformer. Alla levande celler innehåller arvs massa som kallas DNA. Arvs massan innehåller gener vilka är DNA-sekvenser som kodar för olika proteiner. Proteinerna utgör cellens maskineri och utför många olika funktioner. Det är proteiner som katalyserar kemiska reaktioner i cellen. Vissa proteiner används t.ex. också som signalmolekyler eller för att ge cellen struktur. Alla levande celler har också ett cellmembran som separerar cellens interna maskineri från yttervärlden. Cellmembranet består av fetter (så kallade fosfolipider) med inbäddade proteiner som är viktiga för transport av olika ämnen genom membranet.

Det som ligger till grund för systematiken av livet på jorden är organismernas DNA-sekvenser. Det är cellens DNA som kopieras och förs vidare när en cell delar sig och genom att studera DNA-sekvenserna kan vi bestämma det evolutionära släktskapet mellan olika organismer. Om två organismer har väldigt liknande DNA-sekvenser säger vi att de tillhör samma art. Sedan finns det flera andra klassificeringssteg som släkte, familj, ordning, klass, stam, rike och till sist domän som är den grävsta klassificeringen inom biologin. Om vi tittar på livets tre domäner så finns det förutom DNA-sekvenserna också vissa skillnader i hur cellerna är uppbyggda. Eukaryota celler är generellt större (cirka 10-100 μm) än prokaryoter (0,5-10 μm). Eukaryoter har en cellkärna (nucleus) som består av ett membran som omsluter arvs massan. De har också så kallade organeller vilka är relativt komplexa strukturer som utför olika processer i cellen. Mitokondrien är ett exempel på en organell som finns i många eukaryota celler. Mitokondrien fungerar som cellens kraftverk där energi genereras. Celler hos växter och alger har kloroplaster vilka är organeller som utför fotosyntesen. Prokaryoter har betydligt enklare cellstruktur. Bland prokaryoterna klassificeras bakterier och arkéer som två separata domäner. I ett mikroskop är det svårt att se skillnad på de två. Dock har de olika typer av molekyler i sitt cellmembran. Arkéer finner man också oftare i extrema miljöer med t.ex. höga temperaturer eller salthalter.

Alla organismer behöver näring och energi. Energi utvinns genom redoxreaktioner, processen kallas respiration. En respirationsprocess har en elektrongivare, vilket är ett ämne som förlorar elektroner (dvs oxideras), och en elektrontagare, vilket är ett ämne som tar upp elektroner (dvs reduceras). Många eukaryoter oxiderar organiska ämnen och reducerar syre. Vi människor måste äta mat och andas för att få i oss dessa ämnen. Växter och alger producerar sina egna organiska ämnen från

koldioxid genom fotosyntesen. Jämfört med eukaryoter så har prokaryoter en betydligt större diversitet när det gäller respiration. Prokaryoter kan använda många olika ämnen som elektrongivare och elektrontagare. Vissa arkéer lever under helt syrefria förhållanden och använder organiska ämnen både som elektrongivare och elektrontagare. Detta leder till produktion av koldioxid och metangas. Denna typ av arkéer kallas metanogener och används t.ex. för att producera biogas från avloppsslam. Vissa bakterier kan överleva helt på inorganiska ämnen, t.ex. genom att oxidera järn eller mangan. Ett grovt sätt att klassificera organismer är baserat på syrebehovet:

- Aerobes kräver syre för att överleva.
- Anaerobes lever under helt syrefria förhållanden. För dem kan syre vara giftigt.
- Fakultativa organismer kan anpassa sig och använda syre om det är tillgängligt och andra elektrontagare om syre inte är tillgängligt.

Mikroorganismer och människan

Människokroppen innehåller ett stort antal mikroorganismer. Det finns ungefär lika många bakterieceller som människoceller i kroppen, 10^{13} stycken.⁴ I tarmarna finns det cirka 1 kg bakterier.³ De flesta mikroorganismer som finns i kroppen är viktiga för vår hälsa. De hjälper oss att bryta ner maten och skyddar oss mot patogener. Trots vårt mikrobiella försvar finns det dock patogener som kan ta sig in i vår kropp och orsaka sjukdom. Patogenerna gör oss sjuka av flera olika skäl. De kan döda celler eller få dem att sluta fungera. Vissa växer så snabbt att de "översvämmar" den vävnad som de växer på vilket leder till att cellerna i vävnaden slutar att fungera. De kan också producera giftiga ämnen som direkt dödar celler eller orsakar massiva immunreaktioner som i sig själva är skadliga. Det finns många olika mikroorganismer som är patogena. Några som är speciellt relevanta inom vattenteknik beskrivs nedan.

Eukaryota patogener brukar kallas parasiter. En grupp kallas protozoer, vilka kan betecknas som encelliga djur. Två protozoer som orsakar diarrésjukdom hos människan är *Giardia* och *Cryptosporidium*. Dessa är problematiska vattenföroreningar eftersom de bildar så kallade cystor eller oocystor som är motståndskraftiga mot klorering vilket är den vanligaste desinfektionstekniken för dricksvatten. I Sverige rapporteras cirka 1500 fall av giardiasis och 70-140 fall av cryptosporidiosis till Smittskyddsinstitutet varje år.² Ofta har människor smittats utomlands men det finns även kända fall där många människor har smittats i Sverige. T.ex. år 2010 var det ett stort utbrott av cryptosporidiosis i Östersund när dricksvattnet var kontaminerat. Maskar (*eng. helminths*) är flercelliga eukaryota patogener. Maskäggs kan spridas med vatten som varit i kontakt med fekalier. Äggen kläcks i tarmen och utvecklas till fullvuxna maskar. Maskar finns i hela världen men är vanligare i tropiska klimat. Lindriga infektioner ger oftast inga symtom och en stor del av jordens befolkning har mask.

Många olika bakterier är patogener som sprids av vatten kontaminerat med fekalier. Ett exempel är kolera som orsakas av bakterien *Vibrio cholerae*. Denna sjukdom var mycket vanlig under 1800-talet när städerna växte hastigt och system för att leda bort och rena avloppsvatten inte ännu hade utvecklats. Detta ledde till att dricksvattenkällor förorenades och *Vibrio cholerae* kunde spridas. *Escheria coli* är en vanlig bakterie i tarmkanalen hos människor. De flesta varianter är ofarliga men det finns några som orsakar sjukdomar. En patogen variant kallas enterohemorragisk *Escherichia coli* (Ehec). Ehec finns normalt hos nötkreatur och kan spridas till människor via nötkött, grönsaker som bevattnats med kontaminerat vatten eller t.ex. via bad i sjöar med kontaminerat vatten. *Legionella pneumophila* är en bakterie som orsakar legionärssjukan och pontiacfeber. Den växer optimalt vid 32-42°C så om varmvatten inte hålls tillräckligt varmt finns det risk för tillväxt. Detta kan ske i varmvattensystem med dålig cirkulation på vattnet. Bakterien kan även växa till i t.ex. kyltorn, fontäner, bubbelbad och duschar. Den sprids till människor genom att man andas in små vattendroppar som innehåller bakterien. Det finns ytterligare en lång rad bakterier som orsakar sjukdomar hos människor och som potentiellt kan spridas via vatten. Det är dock intressant att notera att till skillnad från bakterier så finns det inga kända arkéer som är patogener.¹ Detta trots att arkéer är vanliga i

människans tarmkanal och alltså bevisligen kan växa och överleva i människan.

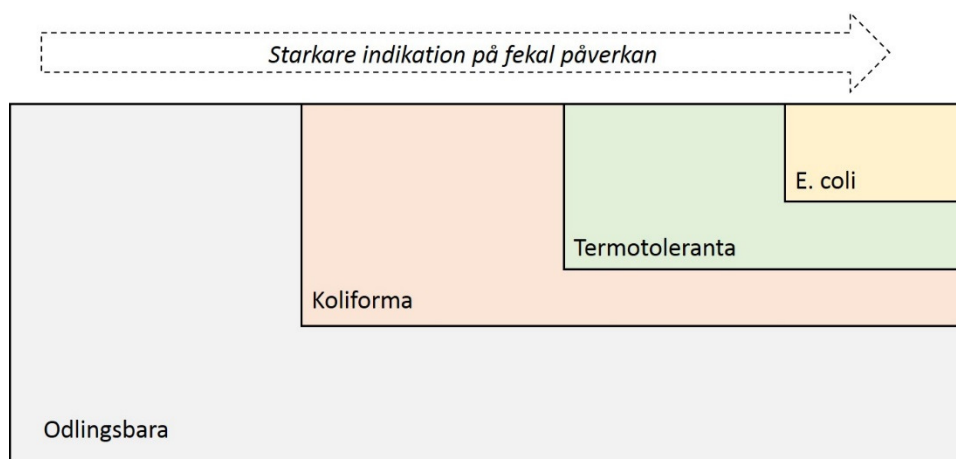
Virus

Man kan diskutera om virus ska klassificeras som levande organismer eller ej. Virus kan inte själva föröka sig utan är beroende av det maskineri som finns inuti levande celler för att kopiera sin arvsmassa och för att producera de proteiner som det består av. Virus infekterar organismer genom att fästa på cellens yta. Antingen tar sig hela viruspartikeln in i cellen eller så injicerar den sin arvsmassa (DNA eller RNA). Om inte cellen är kapabel att försvara sig så börjar den att kopiera virusets arvsmassa och producera proteiner som sätts samman till nya viruspartiklar. Detta leder till slut till att cellen dör, cellmembranet spricker och viruspartiklarna släpps ut och kan infektera nya celler. Sett till antal är virus den vanligaste livsformen på jorden. Någon har uppskattat att jorden har cirka 10^{31} stycken virus och om man lägger dem alla på rad så skulle de täcka en sträcka på 100 miljoner ljusår.³ Det finns ett antal virus som kan infektera människor. Databasen ViralZone (http://viralzone.expasy.org/all_by_species/678.html) listar 129 stycken kända virus som orsakar sjukdomar hos människor. Dessa innefattar allt från Ebolavirus och Human Immunodeficiency Virus (HIV) som kan orsaka mycket allvarliga sjukdomar, till Echovirus som oftast bara orsakar en vanlig förkylning. Calicivirus (vilket innefattar norovirus och saprovirus) är de virus som orsakar vinterkräksjukan. Det är främst dessa virus som orsakar vattenburna utbrott i Sverige. Om råvattentäkten som används för dricksvattenproduktion är kontaminerad med calicivirus kan dessa vara svåra att ta bort i vattenverket. Även rotavirus, som också orsakar magsjuka, kan förekomma i dricksvatten.

Analysmetoder

Eftersom det finns väldigt många olika typer av patogener så är det svårt och dyrt att analysera alla. Istället analyserar man indikatororganismer i vattnet. Eftersom patogener växer i människor och djur så finns de i vatten som har förorenats av människors och djurs fekalier. Indikatororganismer är därför bakterier eller grupper av bakterier som man vet är vanliga i fekalier. *Escherichia coli* (E. coli) är en vanlig indikatororganism. Detta är en bakterie som växer i tarmarna hos människor och varmblodiga djur. Om den finns i vattnet så betyder det att vattnet med hög sannolikhet är kontaminerat med fekalier. Man kan även mäta antalet termotoleranta koliforma bakterier (eng. *fecal coliform*) eller totalantalet koliforma bakterier (eng. *total coliform*). De termotoleranta koliforma bakterierna är specifika för tarmkanalen hos människor och varmblodiga djur men inkluderar en större grupp bakterier än endast E. coli. Totalantalet koliforma bakterier kan också indikera fekal påverkan men de kan även komma från t.ex. jord. Det totala antalet odlingsbara bakterier ger ytterligare en indikation på ett vattens biologiska kvalitet. Denna parameter inkluderar både koliforma bakterier och andra typer av bakterier som också kan odlas i laboratorium (Figur 5-2).

En metod för att bestämma antalet bakterier i ett vattenprov är att filtrera en känd volym vatten genom ett membran med en porstorlek $<0,45 \mu\text{m}$. Bakterierna i vattnet fastnar då på filtret. Sedan lägger man membranet på ett näringsmedium i en petriskål och låter bakterierna växa i ett eller flera dygn i en inkubator med kontrollerad temperatur. Bakterierna på membranet växer i antal och bildar kolonier. Baserat på antalet kolonier så kan man bestämma koncentrationen av bakterier i vattnet. Genom att modifiera sammansättningen av näringslösningen och temperaturen för inkubationen så kan man differentiera mellan totala antalet odlingsbara bakterier, koliforma, termotoleranta och E. coli.



Figur 5-2. Biologiska vattenkvalitetsparametrar. Det totala antalet odlingsbara bakterier, totala koliforma, termotoleranta, och *Escherichia coli* används som indikatorer på fekal påverkan av vatten.

I vissa fall, t.ex. när man misstänker att dricksvattnet är kontaminerat, så vill man analysera vattnet för specifika patogener. Koncentrationer av *Giardia* och *Cryptosporidium* i vatten mäts genom att filtrera stora mängder vatten. Genom att använda magnetiska korn med antikroppar som binder till (oo)cystorna så kan man separera dessa från andra partiklar i vattnet. Sedan använder man mikroskopi i kombination med fluorescerande markörer för att identifiera och räkna (oo)cystorna.²

För detektion av specifika mikroorganismer och virus så kan molekylärbiologiska metoder användas. PCR (polymerase chain reaction) är en teknik för att kopiera en viss sekvens av arvsmassan hos en organism. Med en variant av tekniken som kallas realtids-PCR så kan man följa antalet kopior som bildas i realtid och på detta sätt beräkna antalet sekvenser som fanns i vattenprovet från början. Metagenomik är en annan teknik där man sekvenserar den DNA från alla organismer som finns i ett prov. Genom att jämföra DNA-sekvenserna med kända sekvenser från en databas så kan man få information om vilka organismer som finns i provet och vilka funktioner de har.

Nyckelbegrepp – Kapitel 5

Eukaryoter, bakterier, arkéer, virus, parasiter, protozoer, patogener, indikatororganismer, patogener.

Referenser

1. Gill, E. E. Brinkman, F. S. (2011). The proportional lack of archaeal pathogens: Do viruses/phages hold the key? *Bioessays* **33**(4): 248-254.
2. Hansen, A. (2011). *Giardia och Cryptosporidium i svenska ytvattentäkter*. Solna, Smittskyddsinstitutet.
3. Nature (2011). Microbiology by numbers. *Nature Reviews Microbiology* **9**(9): 628-628.
4. Sender, R., Fuchs, S. Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biology* **14**(8): e1002533.