



SINTEF

Sekvenseringsteknologi

Ny kunnskap om mikrobiologi i drikkevann

Gunhild Hageskal

SINTEF Bioteknologi og Nanomedisin

Verden går framover





SINTEF

Dyrkningsmetoder i 170 år

- Kun ca. 1% av mikroorganismene i vannprøver kan dyrkes i laboratoriet
- Dyrkningsmetoder som kimtall representerer dermed ikke mikrobiotaen i drikkevann
- Kan dyrkningsuavhengig sekvenseringsteknologi gi ny kunnskap om mikrobiologien i drikkevann?



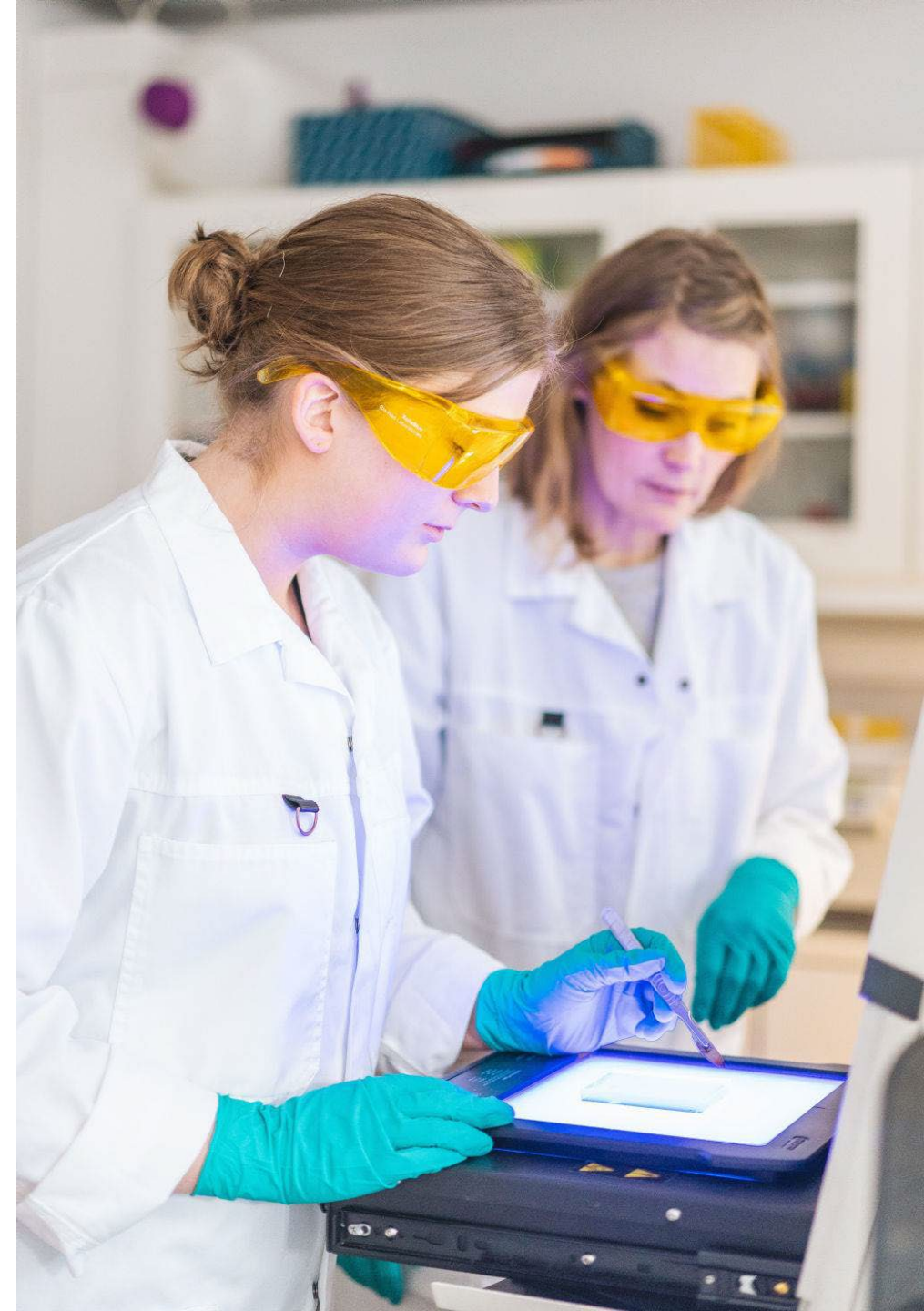
**John Snow
1854**



SINTEF

DNA - sekvensering

- Lese av mikroorganismers genetiske kode, dvs. rekkefølgen av byggesteiner i arvestoffet
- Helgenomsekvensering (shotgun)
 - Sekvenserer hele genomet til en organisme
- Amplikonsekvensering
 - Sekvenserer enkeltgener eller deler av gener

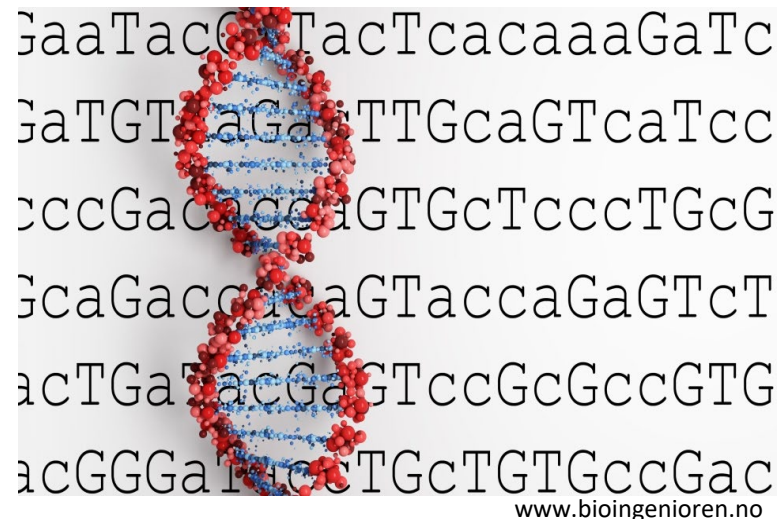




SINTEF

Helgenomsekvensering

- Sekvensere hele genomet (arvestoffet) til en organisme
- Vanligvis fra reinkultur av f.eks. en bakterie
- Kan brukes for ID til artsnivå (søk mot databaser)
- Kan brukes for å se på genetisk likhet/ulikhet, for å identifisere mulig kilde
- Man kan også søke etter ulike funksjoner i genene "genome mining" f.eks. om en organisme har kjente resistensgener mot desinfeksjon





SINTEF

Koliforme bakterier påvist i reservevannkilde og ledningsnett i Trondheim kommune

- 2019-2022: Rutineanalyser påviste koliforme bakterier
- Sikker ID ble ikke oppnådd med standard metoder
- 14 bakteriestammer totalt - helgenomsekvensert
- Stammene tilhører bakteriearten *Lelliottia jeotgali*
- Tilnærmet genetisk identiske, hvilket tyder på at de har felles kilde, sannsynligvis vannkilden
- Indikasjon på klorresistens - både ved dyrkningsforsøk og ved genome mining (resistensgener)
- Indikasjon på at *L. jeotgali* overlever UV vha. hoppekrepss fra vannkilden





SINTEF

Koliforme bakterier i drikkevann

- Familie *Enterobacteriaceae* – vanlig i tarm, men også miljø
- Oppdatert standardmetodikk for påvisning
 - 2014: nytt vekstmedium
 - 2017: lengre inkubasjonstid
- Påviser oftere koliforme - mange av disse er "miljøkoliforme", metoden ikke spesifikk nok til å skille tarm- og miljøopprinnelse
- Påviser nå koliforme bakterier man ikke har klart å påvise før
- WHO: koliforme som indikator er mer egnet til indikasjon på biofilm i rørnett eller innlekking av uønsket materiale





SINTEF

Amplikonsekvensering

- Sekvensere enkeltgener eller deler av gener
- Kartlegge sammensetningen av mikrobielt samfunn
- Felles genetisk markør for alle bakterier - 16S rRNA
- Finnes flere genetiske markører: ITS – sopp, 18S – eukaryote organismer
- Vanlig brukt for å kartlegge bakteriesamfunn i næringsmiddelindustri, akvakultur, medisin, økologi, etc.
- Gir et mønster / fingerprint av sammensetningen av bakterier, typisk på slektsnivå
- Hvilken funksjon har det bakterielle samfunnet?
- Endringer?



MiSeq



SINTEF

OPTIFILMS – ny kunnskap om mikrobiologi i ozonering-biofiltreringsanlegg

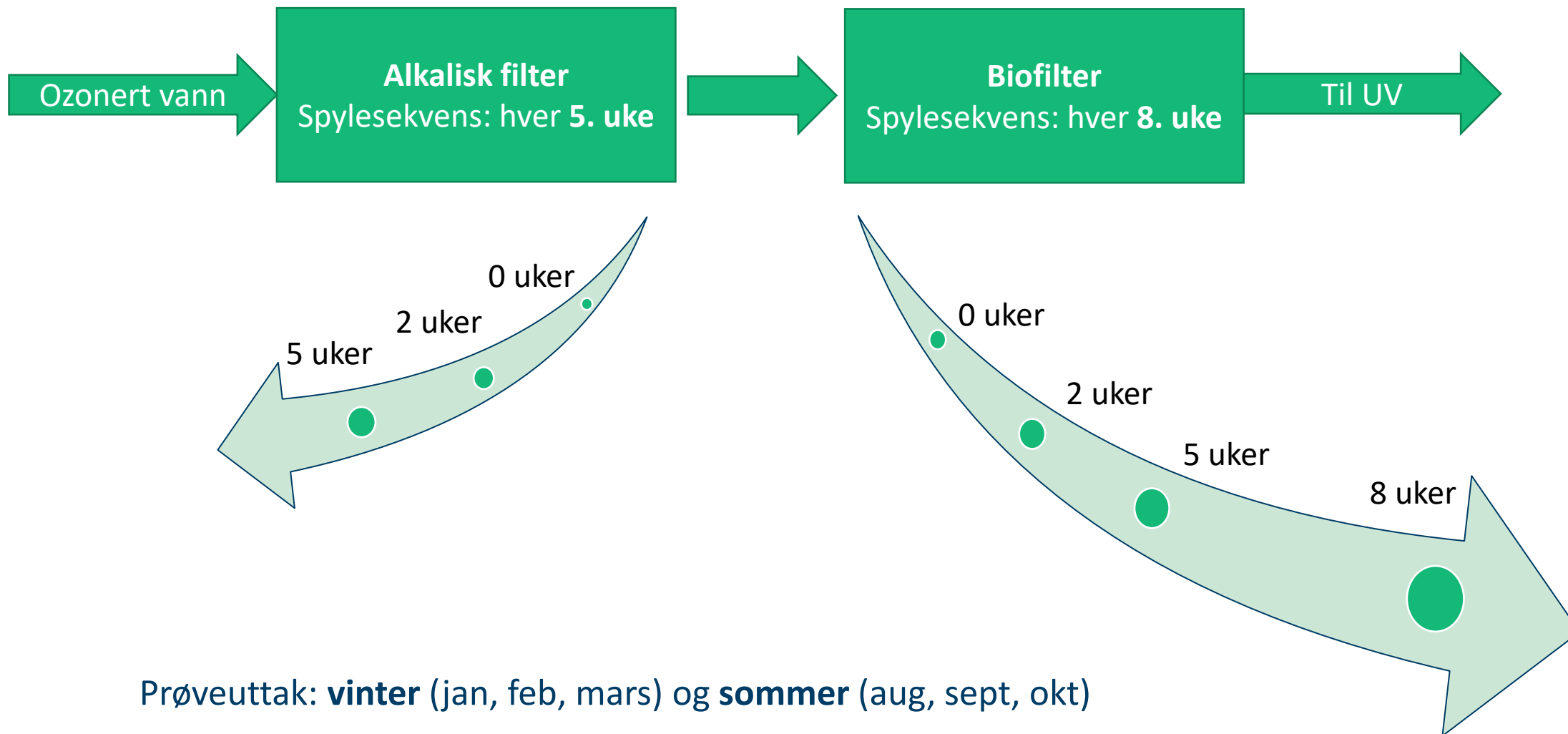
- IVAR (Stavanger)
- Kartlegge mikrobiota i biofilm på filtermateriale
- Alkalisk filter – marmorgrus
- Biofilter – brent leca
- 2 prøveomganger dekker sesongvariasjon
- Ulike tidspunkt i filtermodningsyklus
- Sekvensering av 16S rRNA (bakteriesamfunn)
- I tillegg gjør IVAR egne analyser





SINTEF

Prøvetaking av biofilm fra filter hos IVAR

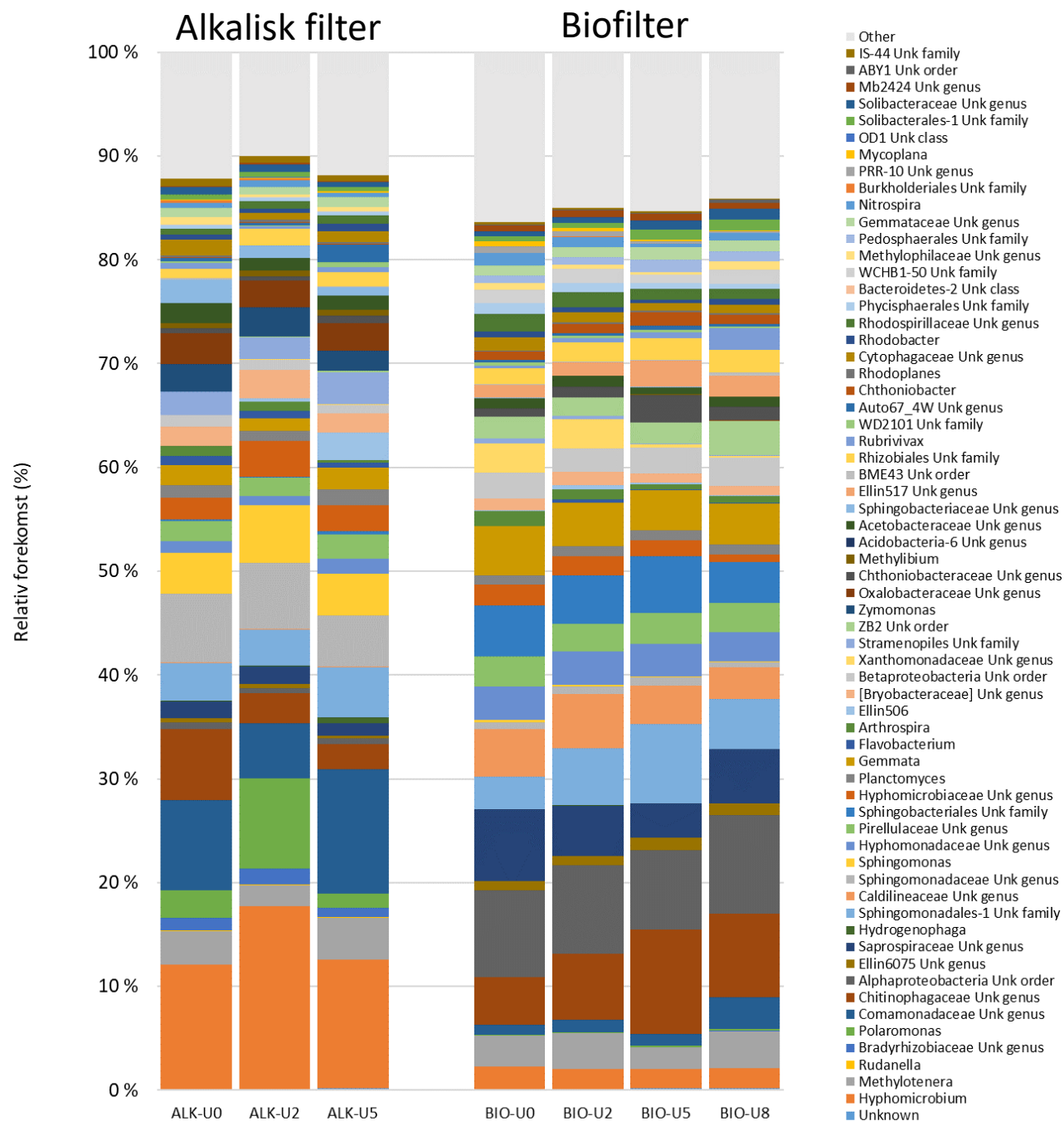




SINTEF

Resultater

- Sammensetning av bakterielt samfunn på **slektsnivå** i biofilm fra alkalisk- og biofilter (eks. sommer)
- Forskjell på sesonger
- Forskjell på filtertyper
- Alkalisk filter assimilerer næring som karbon og nitrogen
- Biofilter utkonkurrerer i tillegg opportunistiske bakterier (patogene)
- En gunstig stabil biofilm = Biostabilt vann ut til forbruker!



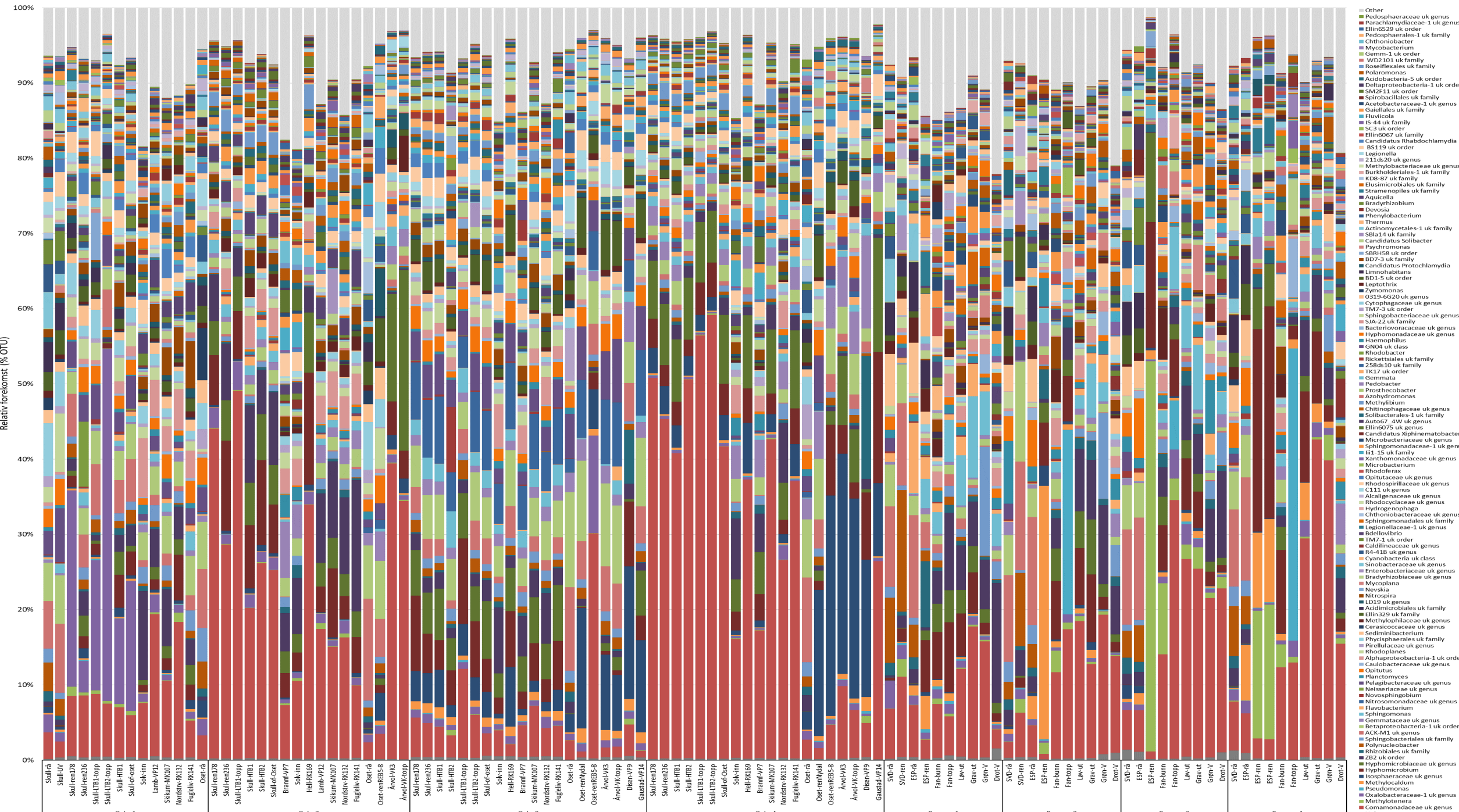


SINTEF

Ny kunnskap om mikrobiologi i vannsystem med bergsprengte drikkevannsmagasiner

- Oslo VAV og Bergen Vann
- Kartlegge mikrobiota i drikkevann
- 10 punkter på distribusjonsnettet i Bergen
- 20 punkter på distribusjonsnettet i Oslo
- 4 prøveomganger til ulike tider på året
- Sekvensering av 16S rRNA (bakteriesamfunn)
- Sammenligne med vannverkens egne analyser
- Bioinformatisk analyse pågår...







SINTEF

Oppsummering

- Sekvensering gir viktig ny informasjon om bakteriesammensetningen i drikkevann
- Sekvensering kan brukes til sikker ID og til kildesporing
- Bakteriesamfunnet har en funksjon i vannbehandling og i distribusjonsnett
- Ta vare på den gunstige biofilmen - næringsopptak og utkonkurrering av patogener
- Et gunstig stabilt bakteriesamfunn = biostabilt vann ut til forbruker
- Trenger mer kartlegging under norske forhold, både av vann og biofilm

Takk for oppmerksomheten!



Sr. Ing. Tone Haugen
DNA-ekstraksjon,
sekvensering, ddPCR



Dr. Tonje B Heggeset
Bioinformatikk, sekvensering,
metagenomikk



Dr. Anna Lewin
Molekylærgenetikk,
eDNA, metagenomikk



Dr. Gunhild Hageskal
Mikrobiologi, vannkvalitet,
metodeutvikling



SINTEF

Teknologi for et bedre samfunn

gunhild.hageskal@sintef.no