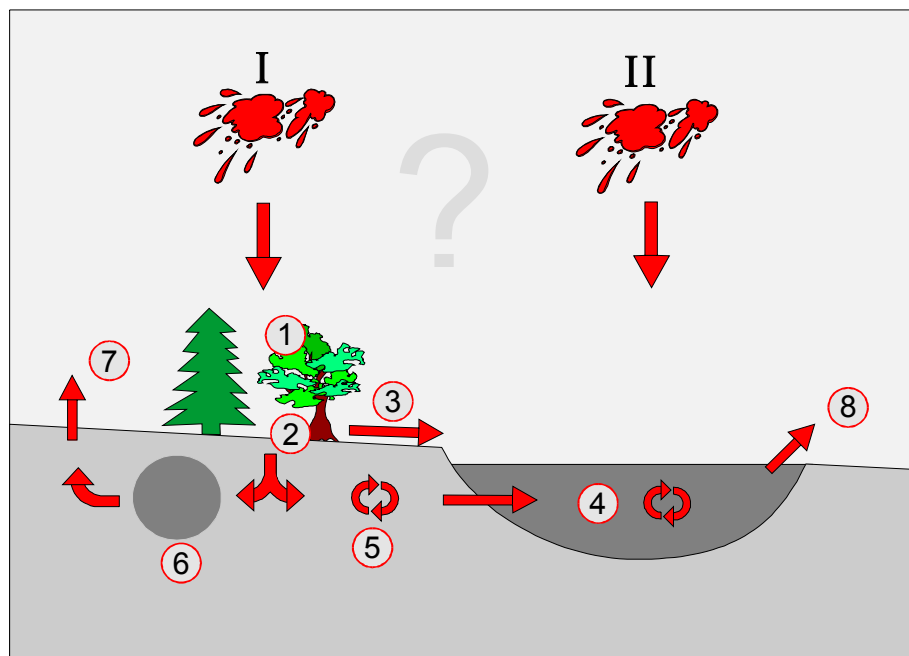


Rune Berglind, Annica Waleij, Jan Burman,
Åsa Tjärnhage, Jan Sjöström, Mats Forsman

Förstudie - NBC i mark och vatten

Transport, exponering, biotillgänglighet



Rune Berglind, Annica Waleij, Jan Burman,
Åsa Tjärnhage, Jan Sjöström, Mats Forsman

Förstudie - NBC i mark och vatten

Transport, exponering, biotillgänglighet

Figuren på omslaget illustrerar tänkbara processer och konsekvenser vid spridning av (kemiska) stridsmedel via två scenarier:

- I Utspridning över land med möjlig transport till vattendrag och grundvatten.
- II Utspridning över vatten.

Siffrorna 1-8 visar tänkbara processer och konsekvenser efter utspridning har skett.

1. Deposition av stridsmedel i gas eller vätskeform.
2. Stridsmedlet når markytan via direkt deposition eller indirekt från vegetation via regn.
3. Ytavrinning vid kraftigt regn.
4. Vid scenario I kombinerat med ytavrinning kan akut toxiska nivåer uppnås i vattenfasen.
5. Nedträngning i mark.
6. Kontaminering av ytligt grundvatten.
7. Dricksvattenuttag (brunnar) kan påverkas.
8. Ytvatten kan bli obrukbart för konsumtion.

Utgivare Totalförsvarets Forskningsinstitut - FOI	Rapportnummer, ISRN FOI-R--1073--SE	Klassificering Underlagsrapport
	Forskningsområde 3. Skydd mot massförstörelsevapen	
	Månad, år December 2003	Projektnummer A4231
	Verksamhetsgren 2. Anslags- och avgiftsfinansierad verksamhet	
	Delområde 31. N-Forskning 32. B- och C-Forskning	
Författare/redaktör Rune Berglind Annica Waleij Jan Burman Åsa Tjärnhage Jan Sjöström Mats Forsman	Projektledare Rune Berglind	
	Godkänd av	
	Uppdragsgivare/kundbeteckning Försvarsdepartementet	
	Tekniskt och/eller vetenskapligt ansvarig	
Rapportens titel Förstudie - NBC i mark och vatten. Transport, exponering, biotillgänglighet		
Sammanfattning (högst 200 ord) Spridning av N-, B- och C-ämnena samt besläktade ämnen och produkter kan utgöra ett akut och/eller långsiktigt hot mot människor och miljön, detta oavsett bakomliggande syfte och mål. I två tidigare genomförda litteraturstudier vid FOI NBC-Skydd har miljöeffekter av kemiska och biologiska stridsmedel sammanställts. Syftet med föreliggande förstudie har varit att uppdatera ovan nämnda studier samt komplettera utredningen genom att inkludera nukleära stridsmedel (N). Arbetet har utförts som en litteraturstudie där uppgifterna om de olika ämnena/mikroorganismernas egenskaper har hämtats från tillgänglig öppen litteratur. Möjligheterna för att genomföra fältförsök och kombinera dessa med matematisk modellering samt laboratorieförsök har också utretts. Målet har varit att ge förslag till forskningsuppdrag inför kommande år inom området.		
Nyckelord NBC-stridsmedel, miljöeffekter, spridning, transport, exponering, biotillgänglighet		
Övriga bibliografiska uppgifter	Språk Svenska	
ISSN 1650-1942	Antal sidor: 72 s.	
Distribution enligt missiv	Pris: Enligt prislista	

Issuing organization FOI – Swedish Defence Research Agency	Report number, ISRN FOI-R—1073--SE	Report type Base Data report
	Programme Areas 3. Protection against Weapons of Mass Destruction	
	Month year December 2003	Project no. A4231
	General Research Areas 2. Research and development of knowledge and resources for the military defence	
	Subcategories 31 Nuclear Defence Research 32 Biological and Chemical Defence Research	
Author/s (editor/s) Rune Berglind Annica Waleij Jan Burman Åsa Tjärnhage Jan Sjöström Mats Forsman	Project manager Rune Berglind	
	Approved by	
	Sponsoring agency The Ministry of Defence	
	Scientifically and technically responsible	
Report title (In translation) Feasibility study - NBC in the environment. Transport, exposure, bioavailability.		
Abstract (not more than 200 words) <p>Dispersion of N-, B- and C-agents can constitute an acute or long-term threat to humans and/or the environment, whatever the underlying purpose behind the release was. Two previous literature studies, performed at FOI NBC Defence, have investigated the environmental effects of chemical and biological weapons. The purpose of this report has been to update above mentioned studies, and include nuclear weapons (N) as well. The study has been performed as a literature study, where the indata of the different substances and microorganisms has been gathered from available open literature. The possibilities for performing field studies and combining these with mathematical modelling have also been investigated. The overall goal has been to make suggestions for research in this field in the coming years.</p>		
Keywords NBC- warfare agents, environmental effects, dispersion, transport, exposure, bioavailability		
Further bibliographic information	Language Swedish	
ISSN 1650-1942	Pages 72 p.	
	Price acc. to pricelist	

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1. Inledning	7
1.1 Bakgrund och syfte.....	7
1.2 Definitioner.....	8
1.3 Exponering – Effekt.....	8
1.4 Problemställning.....	9
1.5 Material och metod.....	9
2. Nukleära stridsmedel	11
2.1 Inledning och bakgrund.....	11
2.2 Radioaktiva doser.....	11
2.3 Radioaktiva nuklider.....	12
2.3.1 Cesium-137.....	12
2.3.2 Strontium-90.....	13
2.3.3 Jod-131.....	13
2.3.4 Plutonium-239.....	14
2.4 Radioekologi – exponering och upptag.....	14
2.5 Förslag till fördjupade studier för N.....	17
3. Biologiska stridsmedel	18
3.1 Biologiska stridsmedel- avgränsningar och definitioner.....	18
3.2 Mikroorganismers överlevnad i miljön.....	20
3.2.1 Vilande stadium.....	22
3.2.2 Biofilmer.....	23
3.2.3 Naturlig nisch i öppna ekologiska system.....	24
3.2.4 Överlevnad i värddjur.....	24
3.3 Exempel på olika mikroorganismers förmåga till överlevnad.....	26
3.3.1 Kategori A- organismer.....	26
3.3.2 Kategori B-organismer.....	30
3.3.3 Växt- och djursjukdomar.....	33
3.4 Mikroorganismers spridningsförutsättningar i naturmiljön.....	35
3.5 Förutsättningar för etablering i Sverige.....	36
3.6 Förslag till fördjupade studier för B.....	38
4. Kemiska stridsmedel	40
4.1 Inledning och bakgrund.....	40
4.2 Spridning av kemiska stridsmedel i naturmiljön.....	40
4.2.1 Mark och grundvatten.....	41
4.2.2 Sjöar och vattendrag.....	43
4.3 Exponering och biotillgänglighet.....	43
4.3.1 Exponering via gas.....	44
4.3.2 Exponering via partiklar.....	45
4.3.3 Överföring via gröda.....	46
4.3.4 Överföring via vattenfas.....	47
4.4 Förslag till fortsatta studier för C.....	49
5. Modellbeskrivning av transport i mark och vatten	50
5.1 Generella ansatser.....	50
5.2 Översikt av modeller.....	51
5.2.1 Modeller för N.....	51
5.2.2 Översikt av modeller för B.....	52

5.2.3	Översikt av modeller för C	52
5.2.4	Andra modeller än FVM.....	53
5.2.5	Randvillkor.....	54
5.3	Förslag till fortsatta studier av transportmodeller	55
6.	Diskussion	56
7.	Förslag till nytt forskningsprojekt NBC	58
7.1	Målsättning.....	58
7.2	Områdesöversikt.....	58
7.3	Betydelse	59
7.4	Fältstudie – försöksområde	59
8.	Erkännanden.....	59
9.	Referenser.....	60

1. Inledning

1.1 Bakgrund och syfte

Produktion, användning och avsiktlig som oavsiktlig spridning av ämnen, produkter och smittsamma mikroorganismer innebär risk för exponering av människor och miljö med följder som på förhand är svåra att överblicka eller förutsäga. Sett i ett historiskt perspektiv är användningen av exempelvis flamskyddsmedel och halogenerade kolväten några kända exempel som lett till allvarliga följder globalt för miljö och samhälle. Utsläpp av processvatten innehållande tungmetaller från metallurgisk industri och av dräneringsvatten förorenat med bekämpningsmedel från jordbruksområden kan ge geografiskt begränsade ekologiska katastrofer. Inom sådana påverkade områden har allvarliga effekter påvisats på djurs och växters vitalitet samt på mångfalden av arter (Hoffman et al 1995).

Från de radioaktiva nedfall som har skett under förra seklet har vi kunnat studera ett antal radioaktiva nuklider vad gäller deras påverkan på naturen och oss människor. Radioaktiva nuklider kan inte destrueras till ofarliga rester utan de avklingar enligt fysikaliska lagar. Riskerna med radioaktiva nuklider är att när de når marken så går de in i det naturliga kretsloppet och kan därför finnas kvar i naturen lång tid efter ett nedfall. Hur stora riskerna med det är för människan beror på hur stor mängd radioaktivitet som spridits och hur stor risk det är att den/dessa nuklider tas upp i näringskedjor som är viktiga för oss människor.

Mikroorganismer förekommer överallt där liv kan existera, även i extremt ogynnsamma miljöer där inga andra högre livsformer förekommer. Mikroorganismer spelar en oumbärlig roll i naturens kretslopp och de flesta är nyttiga. En del är dock sjukdomsframkallande och smittsamma och det är dessa vi främst är intresserade av. De flesta av de smittsamma mikroorganismer man misstänker kan få en användning som biologiska stridsmedel är naturligt förekommande i naturen.

Ur ekotoxikologiskt perspektiv påverkas inte riskbedömningen av kemiska ämnen och produkter eller av biogena ämnen och produkter utifrån deras ursprung. Vid bedömningen utgår man ifrån såväl ämnets exponerings- som effektrelaterade egenskaper. Intresset fokuseras till den aktiva komponentens inneboende egenskaper, exponeringsgrad och effekt vid bedömning av risk för uppkomst av allvarliga skador på miljö och människor (samhälle) vid användning och spridning.

Spridning av N-, B- och C-ämnen kan utgöra ett akut och/eller långsiktigt hot mot människor och miljön, detta oavsett bakomliggande syfte och mål. I en litteraturundersökning av Karlsson et al (1998) har miljöeffekter av kemiska stridsmedel sammanställts. Författarna konstaterade att viktiga kunskapsluckor finns gällande biologisk och kemisk nedbrytning, samt för transport och adsorption i mark, grund- och ytvatten av dessa ämnen. I en annan litteraturstudie (Forsman 1998) har på motsvarande sätt en genomgång av kända långtidseffekter av B-stridsmedel i miljön gjorts. I studien konstateras att eventuella långsiktiga effekter på miljön orsakade av avsiktliga utsläpp av smittsamma B-organismer beror av deras förmåga till överlevnad i komplexa miljöer. De allra flesta mikroorganismer som introduceras i en ny miljö saknar förutsättningar för överlevnad eftersom de inte är anpassade för den nya miljön, men vissa mikroorganismer kan överleva i naturen under en mycket lång tid. Ett fåtal B-organismers beteende i naturliga miljöer finns kartlagda men för de flesta B-organismer saknas erforderlig kunskap.

Syftet med denna studie har varit uppdatera och komplettera (inkludera N) den utredning som gjorts av Karlsson et al (1998) samt Forsman (1998). Utredningen har syftat till att beskriva dessa ämnens öde i mark och vatten satt i relation till det kunskapsbehov som finns. Vidare skulle signifikanta kunskapsluckor som kan vara av betydelse för riskbedömningen av dessa ämnen identifieras. Målet har varit att ge förslag till forskningsuppgifter inför kommande år inom området.

1.2 Definitioner

NBC är förkortning av orden nukleär, biologisk och kemisk. I en utvidgad definition av försvarsmakten (OPIL) från 2002, i enlighet med det breddade säkerhetsperspektivet, omfattar NBC:

- skydd mot NBC-vapen,
- skydd mot avsiktlig utspridning av radioaktiva ämnen, smittämnen, giftiga kemikalier och toxiner samt
- skydd mot oavsiktlig spridning t.ex. följdverkan av tidigare händelse, olycka eller naturligt höga nivåer av NBC-ämnen (Häggström et al 2002)

För de avgränsningar av begreppen NBC som gjorts i denna rapport, se kapitel 5.1.

1.3 Exponering – Effekt

Det kan tyckas vara ett onödigt påpekande men för att ett N-, B- eller C-stridsmedel (agens) ska uppnå avsedd effekt måste åtminstone följande villkor uppfyllas. Stridsmedlet måste finnas i tillgänglig form och någon måste exponeras och adsorbera ämnet. Upptaget sker i huvudsak via tre vägar: oralt, dermalt och via inandning. För att avsedd effekt ska uppstå måste den upptagna och adsorberade mängden vara tillräcklig för att störa vitala biologiska system eller ge upphov till ett sjukdomstillstånd. För smittsamma mikroorganismer krävs exponering för minst en infektionsdos för att sjukdom ska uppstå. Hur stor den dosen är kvantitativt kan variera mycket, beroende på typ av agens, transmissionsväg samt den drabbade individens känslighet för aktuellt agens.

Ett NBC-agens kan nå och exponera människan på ett flertal olika sätt:

1. Bundet till jordpartiklar
 - Direkt exponering via födan t.ex. jord på grönsaker eller jordpartiklar som fastnar på huden eller via inhalation av jordpartiklar
 - Indirekt kan exponering av ett agens ske efter det att det tagits upp i gröda, grönsak etc. I detta fall kan ledet bestå av ett eller flera steg
2. Löst/uppslammat i vatten
 - Kemikalien eller mikroorganismen finns löst/fri eller partikelbunden i det vatten som används
 - För organismer och växter som lever på land är de föroreningar som finns i vattnet bundet till jordpartiklar en källa till exponering
3. Via luften i form av gas eller aerosol
 - Substansen har tillräckligt låg kokpunkt så att den ger en gas som blandas med den luft vi andas eller växter exponeras för
 - B-agens kan förekomma som våt eller torr aerosol.
4. Via livsmedel.

Risken för exponering för ett agens bestäms inte enbart av dess förekomst utan även av i vilken form det uppträder, d.v.s. om det är mobilt, mobiliserbart eller fast bundet. I det fall ett agens vid exponering är mobilt eller mobiliserbart blir det biotillgängligt. Först när det är biotillgängligt kan det ge upphov till en effekt. Risken för exponering avgörs således främst av dess tillgänglighet. Det finns stora kunskapsluckor angående orsakssamband för exponering, upptag samt effekt av NBC-agens, vilket illustreras i figur 1.



Figur 1. Osäkerheter rörande orsakssamband för exponering, upptag samt effekt av NBC-agens.

1.4 Problemställning

Ödet för s.k. NBC-agens (toxiska kemiska ämnen, radioaktiva ämnen och smittsamma mikroorganismer) i naturen bestäms av fysiska och biologiska faktorer på plats. En betydande faktor är ämnets eller mikroorganismens ”förmåga” till persistens eller överlevnad i den aktuella miljön. Följande frågeställningar är aktuella:

- Spridningsförutsättningar: Kan ett agens, överleva, spridas och transporteras från utsläppsplatsen till tänkta mottagare och då utgöra en allvarlig miljö- och/eller hälsorisk? Vilka egenskaper hos den omgivande miljön är betydelsefulla för överlevnaden alternativt nedbrytningen av agens?
- N-ämnen: Vilka egenskaper hos dessa ämnen bestämmer deras öde i naturen? Vilka relevanta exponeringsvägar är kända?
- B-ämnen: Vilka egenskaper hos en mikroorganism gör dess överlevnad i naturen möjlig? Hur ser en biotop ut där mikroorganismen ges möjlighet att expandera och vilka möjligheter har den att spridas ut från en sådan och nå sitt mål?
- C-ämnen: Vilka egenskaper hos mark och vatten behövs för att ett C-ämne ska överleva en längre tid? Vilka är de relevanta exponeringsvägarna för C-ämnen? Biotillgänglighet och effekt är nära sammanlänkade; hur påverkas effekten av C-ämnet av abiotiska faktorer?

Kunskapsluckor som identifieras ska utvärderas och ligga till grund för förslag till forskningsprojekt. Fokus kommer att vara mot specifika frågeställningar inom NBC i mark och vatten som kräver utökad forskning för att beskriva risken för uppkomst av skada på människor, djur och gröda vid exponering för olika NBC-agens.

1.5 Material och metod

Förstudien har utförts som en litteraturstudie där uppgifterna om de olika ämnens/mikroorganismernas egenskaper har hämtats från tillgänglig öppen litteratur.

Möjligheterna för att genomföra fältförsök och kombinera dessa med matematisk modellering samt laborieförsök har också utretts.

I litteraturundersökningen har vissa begränsningar gjorts angående valet av agens.

Avgränsningarna har gjorts mot bakgrund av lämplighet som modells substans/agens eller redan identifierat forskningsområde som behöver utredas.

- För nukleära stridsmedel (N-ämnen) har cesium och plutonium valts mot bakgrund av att dessa dels är aktuella som miljöstörande ämnen för Sveriges del men även kan användas som modells substans för andra nuklider.
- Urvalet av smittsamma mikroorganismer har gjorts utifrån en prioriteringslista som framtagits av The Center for Disease Control and Prevention i Atlanta, USA (CDC) använts, samt möjligheten för organismerna att kunna etablera sig i svenska miljöer.
- Inom området kemiska stridsmedel har i första hand VX¹ valts som modells substans. Bakgrunden är att VX är tillräckligt stabil i naturen för att förgifta betande djur flera veckor efter ett nedfall. Betydelsen av interaktionen mellan substansen och omgivningsfaktorer som partiklar, pH och temperatur för nedbrytbarhet och spridning är i dagsläget inte kända i detalj.

De aspekter i litteraturen som särskilt har beaktats beträffande fältförsök och laborieförsök är följande:

- Beskrivning av typlokal
- Spridningsförutsättningar
- Egenskaper hos N-ämnen
- Egenskaper hos B-ämnen
- Egenskaper hos C-ämnen
- Kunskapsluckor
- Förslag till forskningsprojekt

¹ VX: Etyl S-2-diisopropylaminoetyl metylfonotiolat

2. Nukleära stridsmedel

2.1 Inledning och bakgrund

De scenarier som vi kanske främst tänker på när radioaktivitet kan förorena mark och vatten är radioaktivt nedfall från kärnvapendetonationer eller tillbud och haverier i kärnkraftverk. Tjernobylyolyckan, där en av reaktorerna exploderade när reaktorn testkördes utan att alla säkerhetssystem var inkopplade är den största olyckan som hittills har inträffat. Följden av explosionen blev att stora mängder radioaktivitet spreds över Europa med konsekvenser för människor hundratals kilometer från reaktorn. Andra nedfall av radioaktivitet inträffade under 1950- och 1960-talen, då framförallt USA och dåvarande Sovjetunionen utförde atmosfäriska provsprängningar av kärnvapen. Många av dessa provsprängningar genomfördes på hög höjd och gav ett relativt jämnt fördelat radioaktivt nedfall över norra halvklotet

Detta avsnitt i rapporten är tänkt som en kort översikt om de radionuklider som är av intresse för konsekvenserna av ett radioaktivt nedfall; främst deras upptag och omfördelning i mark och vatten samt deras påverkan på människan.

De radionuklider som beskrivs här delas upp i två olika grupper;

1. Radionuklider som förknippas med kärnbränsle och tillverkning av kärnvapen. Här beskrivs plutonium (Pu), men även uran (^{235}U) kan användas vid kärnvapentillverkning.
2. Radionuklider som bildas vid fission av kärnbränsle eller vid en kärnvapendetonation. Inom denna grupp hör ett stort antal radionuklider. De som tas upp i denna rapport är de som är intressanta i ett längre perspektiv, d.v.s. de med en förhållandevis lång halveringstid. Till dessa hör ^{131}I (jod-131), ^{134}Cs (cesium-134), ^{137}Cs och ^{90}Sr (strontium-90).

Generellt kan sägas att det som styr olika radionuklidens mobilitet i jord och upptag i växter är till stor del deras kemiska och fysikaliska egenskaper, men det finns även andra faktorer som spelar in som bioturbulens, t.ex. maskars förmåga att röra om i jord. Deras aktivitet kan exempelvis transportera bort radionuklider från rotzonen och därmed minska upptag i växter. Även det omvända kan naturligtvis ske (Müller-Lemans 1996). För att förstå och beskriva olika nuklidens transport och omsättning i naturliga system så brukar man försöka hitta naturliga ämnen (ofta näringsämnen) som kemiskt och fysikaliskt liknar den radionuklid man vill beskriva. Cesium liknande kemiska egenskaper som kalium och de uppför sig också på liknande sätt i mark och i växter. Växters upptag av radionuklider styrs därför till största delen av om radionukliden i fråga liknar något för växten viktigt näringsämne, t.ex. styrs upptag av ^{137}Cs till stor del av växtens kaliumupptag. De radionuklider som inte liknar något näringsämne har växten ofta ingen naturlig kanal in för, vilket innebär att upptaget av dessa radionuklider mer är av den karaktären att radionukliden "halkar med in" samtidigt med andra näringsämnen. Dit hör bl.a. Pu.

2.2 Radioaktiva doser

Vi skiljer på extern och intern exposition vid ett radioaktivt nedfall. Den externa expositionen kommer främst från de gammastrålande nukliderna i nedfallet, både från luften (under nedfallet) och från marken när radioaktiviteten har nått ned till den. Den

Normal mängd i kroppen: 0.5 g (stabil Cs)
Dagligt intag: 10 µg.

Cesium-137 har studerats i många sammanhang både efter provsprängningarna och efter Tjernobylyolyckan. Många studier visar att den vertikala transporten är långsam, t.ex. återfanns den största andelen av ¹³⁷Cs i många jordar fortfarande i de översta 5 centimetrarna 10 år efter Tjernobylyolyckan (Askbrandt 1996, Sokolik 2001, Ivanov 1997). Lermineral binder cesium hårt och gör ämnet relativt oåtkomligt för växter, uppskattningsvis binds 85 % i jorden och då främst i lermineral. Största mobiliteten för Cs är i mullrika jordar som torv och myr.

Cesium-134 (¹³⁴Cs): denna radionuklid uppför sig som ¹³⁷Cs men har en kortare halveringstid (2.06 år mot 30.17 år). Det gör att den försvinner fortare ut ur ekosystemen och inte har någon stor effekt på längre sikt.

2.3.2 Strontium-90

Halveringstid Fysikalisk: 28.78 år
 Biologisk: ca 50 år
Källor: fissionsprodukt från kärnvapendetonationer och fissionsreaktorer
Typ av sönderfall: β⁻
Utsatta organ i kroppen: ben
Normal mängd i kroppen: 320 mg (stabil Sr)
Dagligt intag: 1.9 mg.

Strontium (Sr) är mer rörligt än Cs. Om Sr tillförs jord i löslig form så förblir en stor del tillgängligt för växter, mestadels i jonbytespositioner. Tillförs lösligt Sr så associeras mindre än 1 % till partiklar eller kolloider (Coughtrey 1983). En viss del fixeras med tiden, mellan 1-5 % årligen. Eftersom Sr binds upp i jonbytespositioner så är den vertikala transporten oftast inte så snabb. Största mobiliteten har Sr i sandiga jordar, i humusrika jordar binds Sr till jonbytespositioner på humuspartiklarna och blir mindre mobilt (Coughtrey 1983).

2.3.3 Jod-131

Halveringstid Fysikalisk: 8.04 dagar
 Biologisk: sköldkörteln: 120 dagar år; övriga organ: 12 dagar
Källor: fissionsprodukt från kärnvapendetonationer och fissionsreaktorer
Typ av sönderfall: β⁻ och γ
Utsatta organ i kroppen: sköldkörteln
Normal mängd i kroppen: 11 mg (stabil jod)
Dagligt intag: 200 µg
(Eisenbud 1997).

Den viktigaste isotopen av jod när det gäller radioaktiva utsläpp från kärnkraftverk och kärnvapendetonationer är jod-131 (¹³¹I). Den är dock ganska kortlivad ($t_{1/2} = 8$ dagar) så att det radiologiska problemet med ¹³¹I är under de första veckorna efter ett radioaktivt nedfall. I ett längre perspektiv är den av mindre intresse. Jod är en gas vid normalt lufttryck och temperatur och sprids därför lätt. Det största problemet med jod är att den koncentreras i sköldkörteln och ger där relativt stor dos. De mest markanta effekterna på människan efter olyckan i Tjernobyl var sköldkörtelcancer hos barn. Det radiologiska problemet med ¹³¹I förutom den direkta dosen, är att ¹³¹I tar sig in i födokedjan via kontaminerade grödor och

Kärnvapentester gjorda i USA utfördes till stor del i Nevadaöknen och mycket av den radioekologiska forskning som gjorts där är därför gjorda i torra näringsfattiga jordar i ökenliknande områden (Coughtrey 1984). Eftersom våra jordar är betydligt mer humus- och näringsrika än de jordar i stäpp och ökenklimat som undersöktes i USA på 1940-, 50- och 60-talen så är resultaten från dessa studier inte alltid överförbara till våra förhållanden i de norra delarna av Europa.

Under de atmosfäriska kärnvapensprängningarna under 1950- och 60-talen fick hela norra halvklotet ett relativt jämnt nedfall av bl.a. ^{137}Cs och ^{90}Sr . I Sverige gjordes ett antal studier under 60-talet på upptag av ^{137}Cs och ^{90}Sr i jordbruksgrödor. Försök utfördes både i lysimetrar och i naturliga miljöer. Ett tjugotal olika jordar representerade större delen av de svenska jordtyperna studerades. Resultaten av dessa studier har sedan legat till grund för en indelning i fyra klasser av Sveriges jordbruksjordar. Uppdelningen gjordes utifrån hur stort upptaget av ^{137}Cs och ^{90}Sr var i grödor. Denna uppdelning grundades främst på fysikaliska och kemiska egenskaper i jorden. I jordar med hög lerhalt blir upptaget av ^{137}Cs i grödor lägre därför att Cs binds in i lerstrukturen och är då inte tillgängligt för växternas rötter. Upptag av ^{90}Sr är lägre i kalkrika jordar på grund av den stora mängden Ca-joner som minskar upptaget av Sr. Utifrån indelning av jordar har det sedan gjorts prediktionsmodeller av upptag för dessa nuklider i svenska jordbruksgrödor (Fredriksson 1968, Eriksson 1994).

Kärnkraftshaveriet i Tjernobyl 1986, varifrån stora mängder radioaktivt stoft spreds över stora områden i Europa, är den hittills största olyckan där radioaktivitet har spridits. Konsekvenserna efter denna olycka blev mycket stora i länder som ligger närmast reaktorn (Ukraina, Vitryssland och Ryssland), där det radioaktiva nedfallet på sina håll blev mycket stort. Men olyckan fick även konsekvenser för andra länder i Europa. I och med att stora mängder radioaktivitet spreds över stora områden har också möjligheter givits för studier av hur radionuklider uppför sig i många olika miljöer. De radionuklider som av naturliga skäl studerats mest är de långlivade fissionsprodukterna ^{137}Cs och ^{90}Sr som ger radiologiska problem långa tider efter ett nedfall.

Ett antal studier har gjorts på vad som sker när radionukliderna i nedfallet efter Tjernobylolyckan har kommit i kontakt med jorden. Främst har studierna inriktats på hur de har omfördelats och migrerat ned i jorden med tiden. Många studier har visat på att de flesta radionuklider (^{137}Cs , ^{90}Sr , Pu, Am) är ganska orörliga och relativt lång tid efter olyckan (5-10 år) fortfarande återfanns i de översta jordlagret (0-6 cm) (Askbrandt 1996, Sokolik 2001, Ivanov 1997).

Upptag av radionuklider i olika växter i skogsmiljö har uppmätts i områdena runt Tjernobyl. De växter som har studerats är bl.a. blåbär, hallon och stenbär. Överföringsfaktorerna (uttryckt som kvoten ”aktivitet i växt/aktivitet i jord”) var störst för ^{90}Sr och ^{137}Cs , medan aktiniderna (Pu, Am) hade betydligt lägre överföringsfaktorer. Detta kan förklaras med att Cs liknar K och Sr liknar Ca och därför kan tas upp aktivt i växter (Lux 1995). Aktiniderna (Pu, Am) liknar inte några näringsämnen för växter och därför är också upptaget dessa betydligt mindre än för Sr och Cs. En studie har visat att en orsak till detta kan vara att aktiniderna kan bindas till stora molekyler som inte är biotillgängliga medan Cs och Sr i större omfattning binds till små biotillgängliga molekyler (Nisbet 1993).

Det är främst ^{137}Cs av fissionsprodukterna som har studerats när det gäller upptag, omsättning och transport av radionuklider i skogsekosystem under svenska förhållanden

och det mesta är gjort efter Tjernobylyolyckan (Nylén 1996). I skogsekosystem har bland annat omfördelning av ^{137}Cs modellerats med hjälp av beskrivningar på omsättningen av organiskt material (IAEA- BIOMASS 2002). Upptag av ^{137}Cs i några för människan viktiga produkter från skogen som älg- och renkött har undersökts och uppskattningar på hur stor dosbelastningen till människa blir från matvaror från skogen har beräknats (Ågren 1998). Resultaten från studier på ^{137}Cs omfördelning i svenska skogsekosystem visar på att den biologiska tillgängligheten kommer minska med ^{137}Cs fysikaliska halveringstid.

En studie av hur migration och upptag av ^{137}Cs , ^{90}Sr och Pu i ett antal växter påverkades av föroreningar av tungmetaller gjordes i slutet av 90-talet på Kolahalvön. Severonikel-smältverket, där bland annat nickel (Ni) utvinns, har släppt ut stora mängder SO_2 (svaveldioxid), Ni och Cu (koppar) sedan starten 1938. Dessa utsläpp har påverkat miljön markant runt smältverket och i området närmast smältverket är vegetationen i det närmaste död. I studien togs markprover och prover av ett antal växter i en gradient från smältverket (7-12 km) plus i en referenspunkt som var opåverkat av föroreningarna. Resultaten visar att radionukliderna i den Ni och Cu-förorenade marken uppför sig annorlunda än nukliderna i den opåverkade marken. Radionukliderna som studerades, ^{137}Cs , ^{90}Sr och Pu, var i större utsträckning fördelade i förnalagret och i marken under rotzonen i de förorenade provtagningsplatserna än i referenspunkten. Anledningen till att en större andel av de studerade nukliderna befann sig i förnalagret i de förorenade områdena beror på att detta lager var tjockare i området runt smältverket, troligtvis orsakat av mindre mikrobakteriell aktivitet som normalt bryter ned förnan (Suomela 1999). Detta förhållande, att förnalagret innehöll mer än rotzonen gällde även näringsämnen som K, Ca och Mg. Den minskade mängden av både näringsämnen och radionuklider i rotzonen fick till följd att upptaget i blåbär, lingon och kråkbär blev lägre i de förorenade områdena än i referenspunkten.

2.5 Förslag till fördjupade studier för N

Denna sammanställning visar att kunskap finns om vissa radioaktiva ämnens omsättning i naturliga system men det finns även kunskapsluckor. Nedan beskrivs några av dessa.

- *Kunskap om vad som händer med ^{137}Cs på lång sikt, mer än 10 år.*
På FOI NBC-Skydd har vi sedan 1986 mätt ^{137}Cs i ett antal referenspunkter i närheten av Vindeln. Fältgammamätningar har gjorts på dessa platser och mark- och vegetationsprover har tagits hem och mätts på lab. Utifrån dessa mätningar har vi kunnat studera hur ^{137}Cs har rörts sig i marken och hur det har tagits upp i ett antal växter. Detta ger oss ett bra underlag för att studera och förstå hur ^{137}Cs omsätts med tiden. Dessa mätningar är värdefulla att fortsätta med för att få kunskap om långtidseffekter av ^{137}Cs .
- *Inhämta kunskap om ^{90}Sr , hur de omsätts i naturliga ekosystem.*
Efter ^{137}Cs är ^{90}Sr den nuklid som på lång sikt har störst påverkan på oss människor. Kunskap behövs därför om hur den nukliden omsätts i ekosystem och hur den går in i olika näringskedjor.
- *Vittring av partiklar*
Radioaktiva nedfall består oftast av partiklar, från små partiklar 0.2 – 1 μm som håller sig svävande i luften längre tider (t.ex. atmosfärstesterna) till betydligt större bränslepartiklar, liknade dem från Tjernobylolyckan som spreds efter explosionen av reaktorn. Hur snabbt dessa partiklar vittrar och vad som påverkar vittringen är kunskap som behövs för att kunna förutse konsekvenserna på lång sikt av ett radioaktivt nedfall. Några studier på partiklars vittring är gjorda efter Tjernobylnedfallet men resultaten är inte entydiga på vad som har störst betydelse för vittringshastigheten. Det skulle därför behöva byggas upp en kunskap om partiklar och hur de beter sig i naturliga miljöer.
- *Smutsiga bomber*
Mycket av den kunskap som finns om konsekvenserna av ett radioaktivt nedfall bygger på att nedfallet kommer från kärnvapen eller kärnkraftsolyckor och det är framförallt problemen med livsmedelsförsörjningen i ett radioaktivt kontaminerat område som man har koncentrerat sig på. Andra typer av scenarier har inte studerats i samma omfattning. Om en s.k. smutsig bomb skulle explodera i en stadsmiljö så uppkommer ett scenario som det inte finns mycket kunskap om. Det radioaktiva innehållet i en sådan bomb kan t.ex. vara nuklider som vi idag inte har så mycket kunskap om hur de omsätts i naturen. Tänkbara radioaktiva nuklider i sådana bomber är t.ex. ^{60}Co och ^{192}Ir .
- *Isotopkvoter för att karakterisera nedfall*
Olika typer av nedfall ger olika kvoter mellan de ingående isotoperna och det kan användas för att få vetskap om vad som har orsakat det radioaktiva nedfallet. Genom att mäta kvoter mellan $^{239/240}\text{Pu}$ i markprover idag skulle vi kunna få en uppfattning om hur Pu i nedfallet från kärnvapentesterna resp. Tjernobylolyckan är fördelade vertikalt i jorden. Detta skulle kunna ge oss kunskap om hur aktiniderna (Pu, Am) uppför sig i jorden åtminstone under en 50-årsperiod. Eftersom forskning om hur aktinider omfördelas och eventuellt ansamlas med tiden inte har gjorts i någon stor mening, så skulle denna forskning kunna tillföra oss viktig kunskap. Mätningar av dessa isotopkvoter skulle också ge oss viktig erfarenhet för N-analyslaboratoriet vid FOI NBC-Skydd.

3. Biologiska stridsmedel

3.1 Biologiska stridsmedel- avgränsningar och definitioner

Med biologiska stridsmedel avses levande organismer som sprids i syfte att infektera och vålla sjukdom eller död bland människor, djur eller växter. De sjukdomsframkallande mikroorganismer, även benämnda B-agens, som kan utnyttjas som biologiska stridsmedel, utgörs av bakterier, virus, protozoer och svampar. Det finns även flera toxiner som härstammar från toxinbildande bakterier som kan användas för samma syfte.

Det finns ett stort antal mikroorganismer som kan orsaka sjukdom, men för att vara möjliga för användning som B- stridsmedel krävs att ytterligare en del förutsättningar är uppfyllda. Det aktuella smittämnet måste:

- kunna produceras i tillräckligt stora mängder
- vid behov kunna lagras under en tid
- klara av utspridning, främst som aerosol
- överleva tillräckligt länge efter utspridning i miljön för att kunna infektera någon.

De tre förstnämnda kriterierna är möjliga att uppfylla med olika tekniska lösningar. Den sista däremot, styrs av de olika inneboende egenskaper som mikroorganismen besitter samt yttre faktorer i den miljö där organismen ska verka. Dessa olika förutsättningar kommer närmare att beskrivas i nedanstående text.

Det finns idag inga metoder för att direkt indikera biologiska stridsmedel som har deponerats i fält. Vi har därför väldigt dålig kunskap om eventuella konsekvenser av ett B-utsläpp på lång sikt i miljön. Det är av stor vikt att kunna skilja på naturliga och mänskligt orsakade utbrott.

Vid misstanke om B-händelse är det därför av yttersta vikt att relevant provtagning kan utföras så att en snabb analys förmår bekräfta eller avlarma om en B-händelse har ägt rum. Det är i detta sammanhang även viktigt att provtagning utförs där mikroorganismer har hamnat så att inte ett falskt negativt provresultat erhålls.

Lokalisering av provtagningsområden baseras idag på gissningar och indirekta informationskällor som ögonvittnen, polis och underrättelsetjänst. Identifiering av ekologiska reservoarer för biologiska stridsmedel är därför viktigt för att veta var i naturen ett biologiskt stridsmedel kan tänkas lagras och ackumuleras. Detta är viktigt dels för att kunna utforma eventuella förebyggande åtgärder men också för provtagning och kontroll av eventuell spridning av stridsmedlet.

Det finns flera sammanställningar över olika smittämnen som kan komma att användas som biologiska stridsmedel. De varierar något beroende på vilka kriterier som använts vid framtagandet. I denna rapport har en prioriteringslista som framtagits av The Center for Disease Control and Prevention i Atlanta, USA (CDC) använts, se nedan. Till skillnad från några av de andra sammanställningarna finns listan samt urvalskriterierna publicerad i öppen litteratur (Rotz et al 2002). Någon annan lista kunde dock ha valts eftersom flertalet i allt väsentligt är rätt lika varandra.

I prioriteringen användes bl.a. olika tidigare sammanställningar² över smittämnen som underlag. Efter viktning utifrån nedanstående kriterier placerades utvärderade smittämnen i tre olika kategorier (A, B och C) efter prioritet, vilka redovisas i tabell 1. De kriterier som användes vid urvalet var bl.a.

1. Påverkan på folkhälsan baserat på potential för orsakande av insjuknande och död.
2. Möjligheter till spridning till en större population beroende av: aktuellt smittämne, stabilitet, möjligheter till massproduktion samt potential för sekundärsmitta från person till person
3. Potential till oro och panikreaktioner hos allmänheten
4. Särskilda behov av beredskap från samhällets sida, exempelvis ökade behov av: diagnostikkapacitet, lagring av vacciner eller medicin samt sjukdomsövervakning.

Tabell 1. CDCs prioriteringslista över biologiska smittämnen som kräver en särskild beredskap från samhället (Rotz et al 2002).

Biologiska smittämnen	Sjukdom
Kategori A-smittämnen	
<i>Bacillus anthracis</i>	Mjältbrand
<i>Clostridium botulinum toxin</i>	Botulism
<i>Yersinia pestis</i>	Pest
<i>Variola major</i>	Smittkoppor
<i>Francisella tularensis</i>	Harpest
Filovirus [<i>Ebola</i> , <i>Marburg</i>] samt Arenavirus [<i>Lassa</i> , <i>Machupo</i>]	Virala hemorragiska febrar
Kategori B-smittämnen	
<i>Brucella melitensis</i>	Brucellos
Toxiner (Epsilon toxin från <i>Clostridium perfringens</i> , Ricin toxin från <i>Ricinus communis</i> , Staphylococck enterotoxin B)	Toxinförgiftning
<i>Burkholderia mallei</i>	Rots/Glanders
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Melioidos
<i>Chlamydia psittaci</i>	Papegojsjuka/psittacos
<i>Coxiella burnetii</i>	Q-feber
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Fläckfeber/Epidemisk Typhus
Alfavirus [Venezuelianskt hästvirus, Togavirus]	Virala encefaliter
Livsmedelsburna mikroorganismer (<i>Salmonella</i> species, <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Shigella</i>)	
Vattenburna mikroorganismer (<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Cryptosporidium parvum</i>)	
Kategori C-smittämnen	
Sjukdomar med potential att orsaka risk för folkhälsan som t.ex. Nipavirus och Hantavirus	

Genetiskt modifierade organismer (GMO) inklusive rekombinanta³ organismer exkluderades från bedömningen p.g.a. svårigheter i att förutse egenskaper och beteende hos dessa och följaktligen även svårigheter att planera en beredskap för dessa. En annan viktig avgränsning i CDCs sammanställning är att endast mikroorganismernas egenskaper som humanpatogener beaktats. Viktiga att understryka är att de flesta smittämnen som skulle kunna komma till användning som biologiska stridsmedel och är listade i tabell 1, dock är zoonoser⁴, och följaktligen skulle kunna komma att användas i syfte att infektera även djur

² Bl.a. Konventionen om Biologiska vapen, Världshälsoorganisationens lista över biologiska vapen och Australiengruppens lista över biologiska vapen för exportkontroll.

³ Med hjälp av rekombinant-DNA-teknik kan man flytta gener mellan individer och arter.

⁴ Vissa mikroorganismer som företrädesvis orsakar sjukdomar hos djur kan i vissa fall spridas mellan djur människa (zoonoser).

(exempelvis *Burkholderia mallei* samt alla *Brucella* arter). Det finns även en mängd andra djur- och växtsjukdomar som skulle kunna användas i syfte att orsaka ekonomisk skada, i kapitel 3.3.3 ges ett par exempel.

3.2 Mikroorganismers överlevnad i miljön

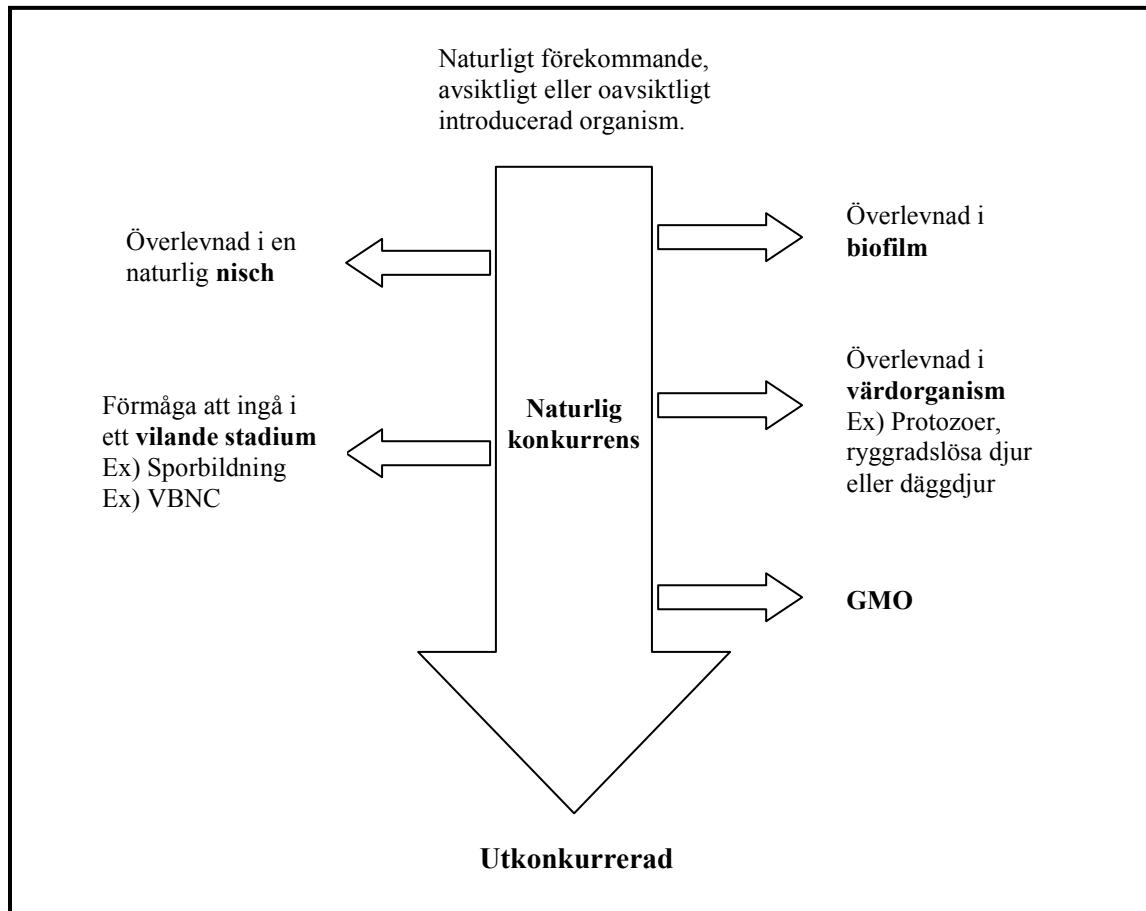
Ofta studeras olika mikroorganismers förmåga till överlevnad i laboratoriemiljö, där odling sker i näringsrika medium. I naturen däremot, utsätts mikroorganismen kontinuerligt för näringsbegränsning och perioder av svält. Det kan därför antas att de allra flesta mikroorganismer som introduceras i en miljö konkurreras ut och dör, då den befintliga organismfloran redan är adapterad till den rådande miljön och på så vis har ett försprång i konkurrensen om näring. Det finns dock ett antal mikroorganismer som har utvecklat en förmåga till anpassning och överlevnad genom en förmåga att utnyttja olika egenskaper beroende på rådande omständigheter. En skillnad i biokemiska processer och morfologi kan därför ofta konstateras mellan mikroorganismer som tillväxt i naturlig miljö respektive i laboratoriekulturer.

Det är stor skillnad mellan att överleva i en viss miljö och att tillväxa i samma miljö. Med *överlevnad* menas att mikroorganismen, som kan befinna sig i ett vilande (dormant) stadium p.g.a. ogynnsamma miljöförhållanden, men innehar en förmåga att återgå i ett tillväxande tillstånd. Med *tillväxt* menas att mikroorganismen konkurrerar med andra organismer om tillgängliga kol- och energikällor. En försvårande omständighet vid identifiering av mikroorganismer i miljön är att det uppskattningsvis är endast 0,001-10 % av andelen bakterier som kan karakteriseras med traditionella mikrobiologiska tekniker (t.ex. odling). Detta innebär att det saknas kunskap för över 90 % av alla mikroorganismer (Edwards 2000). Man har därför valt att använda vissa arter, där mycket kunskap finns, som modeller för mindre kända arter. Exempelvis används *Escherichia coli* som modell för gramnegativa⁵ bakterier, *Bacillus subtilis* som modell för grampositiva⁶ bakterier och *Sacharomyces cerevisiae* som modell för jäst och andra eukaryota mikroorganismer.

Den initiala överlevnaden efter en utspridning av smittsamma mikroorganismer styrs främst av vilken utspridningsmetod som använts samt tåligheten hos aktuellt smittämnen. Faktorer som ökar chanserna till överlevnad är om organismen har någon form av överlevnadsstrategi, ”tillflyktsort”, se figur 3. Några av de överlevnadsstrategier hos mikroorganismer som man känner till är: förmåga att ingå i ett **vilande (dormant) stadium**, överlevnad i **biofilm**, överlevnad i en **naturlig nisch**, samt överlevnad i en **värd**. Man kan också tänka sig att en **genetisk modifierad organism** (GMO) kan ha vissa egenskaper som ökar dess möjlighet till överlevnad i en ny miljö. En sådan mikroorganism kan tillföras egenskaper som t.ex. ökar dess motståndskraft mot uttorkning, solljus och värme. Det är även möjligt att tillföra komponenter som t.ex. åstadkommer förändringar av den symtombild som bakterien eller viruset normalt ger och försvårar diagnos men detta beskrivs inte närmare här.

⁵ Klassificering av bakterier baserad på cellväggens uppbyggnad samt hur bakterien infärgas (med kristallviolett). Grampositiva bakterier (G+) har ett tjockt peptidoglykanlager samt saknar yttermembran. Gramnegativa bakterier (G-) har ett tunnt peptidoglykanlager samt har yttermembran.

⁶ Ibid



Figur 3. Varianter av överlevnad i miljön för naturligt förekommande, avsiktligt eller oavsiktligt introducerade mikroorganismer.

Bakteriers överlevnad i jord varierar stort mellan olika arter, och olika bakteriers överlevnadsmöjligheter bör därför bedömas individuellt. Även virus överlevnad i jord varierar mycket beroende dels på typ av virus, dels på jordens egenskaper. Vissa virus, särskilt de som förknippas med olika växtsjukdomar, kan överleva årtal i jorden. Några generella abiotiska (fysiska) faktorer som påverkar överlevnaden hos bakterier och virus presenteras i tabell 2. Bland de viktigaste faktorerna är temperatur och fukthalt. Förutom de abiotiska faktorerna spelar en rad biotiska (biologiska) faktorer roll, exempelvis predation⁷, parasitism⁸, kommensalism⁹ samt mutualism¹⁰ (Forsman 1998).

I avsnitt 3.2.1-3.2.4 och kapitel 3.3 beskrivs olika typer av överlevnadsstrategier och vilka potentiella B-stridsmedel som man har kunnat påvisa i respektive nisch.¹¹ Uppenbart är att även om det finns en del publicerade resultat angående mikroorganismers överlevnadsmöjligheter i naturliga miljöer så saknas dock kunskap om de flesta smittämners överlevnad i miljön.

⁷ Predation innebär hel eller delvis konsumtion av bytet.

⁸ Förhållande då mikroorganism påverkar sin värd negativt.

⁹ Symbiotiskt förhållande där varken värd eller mikroorganism drar fördel av eller skadar varandra.

¹⁰ Symbiotiskt förhållande där både värd och mikroorganism drar fördel.

¹¹ Sökord som har använts i litteraturstudien har bl.a. varit olika B-agens i kombination med *life cycle/lifecycle, ecology, survival, transport* samt *survival* i kombination med *microbial, environment, biofilm, dormant/dormacy*, och *VBNC/viable non culturable*.

Tabell 2. Abiotiska faktorer som påverkar överlevnaden för bakterier och virus i jord (Berry & Hagedorn 1991, Gerba & Bitton 1984, Abu-Ashour et al 1993).

Parameter	Kommentar
pH	Låga pH-värden (3-5) minskar överlevnaden. Överlevnaden gynnas av högre pH (alkaliska jordar). Optimalt pH ligger mellan 5-8
Vattentillgång	Längre överlevnadstider i våta jordar och efter kraftig nederbörd. De flesta mikroorganismer kräver vattenaktiviteter på mellan 0,95-0,99 a_w ¹² för tillväxt.
Organisk halt	Ökad överlevnad och bättre förutsättningar för tillväxt med högre halter av organiskt material
Jordtextur och partikelstorlek	Finare jordar, särskilt lerjordar med hög humushalt, kvarhåller vatten mer effektivt vilket ökar överlevnaden.
Temperatur	Lägre temperaturer ökar överlevnaden. Generellt fördubblas avdödningen med en ökning på 10°C inom temperaturintervallet 5-30°C
Näringstillgång	Näringstillgång ökar generellt överlevnaden. Olika organismer selektiva för olika substanser, t.ex. kräver heterotrofa organismer en kolkälla för energikrävande redox-reaktioner.
Elektronacceptorer	Syre (eller kväve i vissa fall) krävs för respiration hos heterotrofa organismer
Adsorbtionsegenskaper	Överlevnaden gynnas av adsorbtion
UV-ljus	Minskar överlevnaden
Konkurrens från omgivande mikroflora	Minskar överlevnaden
Förekomst av antibiotika eller toxiska substanser	Minskar överlevnaden. Somliga virus är känsliga för proteolytiska enzymer.

3.2.1 Vilande stadium

3.2.1.1 Sporbildning

Den ena typen av mikroorganismer som kan ingå i ett vilande (dormant) stadium är de sporbildande bakterierna, främst inom arterna *Bacillus* och *Clostridium*¹³. Sporbildningen inträffar när bakterien befinner sig under ogynnsamma tillväxtförhållanden såsom brist på näring, fukt eller höga temperaturer. I sporen kapslas allt av betydelse för cellens vidare överlevnad in och frigörs från övrigt cellmaterial. De bildade sporer är mycket motståndskraftiga mot värme och uttorkning och kan överleva under många decennier i väntan på att bättre livsbetingelser.

3.2.1.2 VBNC

Ytterligare en form av vilande stadium upptäcktes 1982, då Xu et al visade att *Escherichia coli* och *Vibrio cholerae* kunde ingå ett stadium av reversibel låg metabolism, därefter benämnt Viable But Not Culturable, VBNC. Ett flertal studier har gjorts angående fenomenet där *Vibrio*arterna *vulnificus* och *cholerae* tillhör de mest studerade.

I VBNC-stadiet ändrar bakterien morfologi¹⁴ från stavform till en oval, äggform (Chaiyanan et al 2001) och befinner sig sedan i ett stabilt tillstånd för överlevnad under ogynnsamma förhållanden. Revertering inträffar när livsbetingelserna åter förbättras. Under tiden har bakteriecellerna bibehållen låg metabolisk aktivitet och för vissa patogena bakterier även bibehållen virulens. Emellertid kan bakterierna ej längre dela sig i eller odlas på standardlaboratoriemedier.

¹² Vattenuptagningen brukar uttryckas i vattenaktivitet, vilket definitionsmässigt är $a_w = p/p_0$ där p är livsmedlets vattenångtryck och p_0 är ångtrycket över rent vatten vid temperaturen i fråga.

¹³ Av intresse för människan/folkhälsa är främst bakteriearterna *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum* samt *Clostridium perfringens*.

¹⁴ Morfologi innebär bakteriens form och uppbyggnad.

Över 30 arter har hittills påvisats kunna ingå VBNC. De flesta är gramnegativer men det finns även exempel på grampositiva bakterier som påvisats i VBNC (Oliver 1995, Hu et al 1998). Några relevanta exempel ur B-stridsmedelssynpunkt visas i tabell 3. VBNC-konceptet är dock omdebatterat. Vissa skeptiker hävdar att bevis saknas för att bakterien inte i själva verket är skadad och/eller döende samt att eventuell återväxt istället beror på att ett fåtal viabla celler trots allt kan börja växa igen när omständigheterna förbättrats (Bogosian et al 2000, Bogosian et al 1998, Bogosian et al 1996).

Tabell 3. Exempel på bakterier¹⁵ som påvisats kunna inträda i VBNC-stadium.

Bakterie	Orsakar	Bibehållen virulens	Referens
Kategori A			
<i>Yersinia pestis</i>	Pest		Suchkov et al 1997
<i>Francisella tularensis</i>	Harpest	Nej	Forsman et al 2000
Kategori B			
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Melidiosis		Oliver 2000
Kategori B*			
<i>Escherichia coli</i>	Diarreer	Ja, bl.a. produktion av enterotoxin samt virulens-plasmider reaktiverade	Xu et al 1982, Pommeypuy et al 1996, Pillary 2000, Wilber et al 2000
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionärsjuka	Ja	Oliver 1995, Rahman et al 1996, Steinert et al 1997
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listerios		Moore 2001, Besnard et al 2000
<i>Salmonella enteritidis</i>	Salmonellainfektion		Oliver 1995
<i>Salmonella typhi</i>	Tyfoidfieber		Cho & Kim 1999
<i>Salmonella typhimurium</i>	Salmonellainfektion	Ja, virulens-plasmider reaktiverade	Oliver 1995, Wilber et al 2000, Pillary 2000
<i>Shigella dysenteriae</i>	Bacillär dysenteri	Ja, produktion av shigatoxin samt virulens-plasmider reaktiverade	Oliver 1995, Rahman et al 1996, Pillary 2000
<i>Shigella flexneri</i>	Bacillär dysenteri		Oliver 1995
<i>Shigella sonnei</i>	Bacillär dysenteri		Oliver 1995
<i>Vibrio cholerae</i>	Kolera	Ja, produktion av koleratoxin	Xu et al 1982, Colwell et al 1985, Rahman et al 1996, Colwell et al 1996, Wai et al 1996

* Vatten- eller livsmedelsburna

3.2.2 Biofilmer

Traditionellt har mikrobiell forskning kring bakterier främst inriktat sig på fritt svävande bakterier i ett flytande medium (d.v.s. näringsrika buljonger). Majoriteten av alla mikroorganismer i naturen lever dock i s.k. biofilmer. En biofilm är ett organiserat skikt av mikroorganismer och organiskt material som etableras på fasta ytor i kontakt med vatten/biologiska vätskor. En biofilm kan bildas av en ensam bakterieart, men vanligtvis består en biofilm av flera olika bakteriearter, såväl som svampar, alger och protozoer som växer i kolonier och utnyttjar polysackarider och proteiner som näring. *Pseudomonas aeruginosa* används ofta som modell vid studier av biofilmformation.

Den färdiga biofilmens egenskaper varierar beroende på lokalisering, typ av ingående mikroorganismer och tillgång på näringsämnen. Tjockleken kan variera mycket, från tjocka

¹⁵ I detta fall avses med bakterier, sådana som finns med på CDCs kategori A samt kategori B-lista.

cellager (t.ex. plack på tandemalj) till tunna lager (ytor i oligotrofa naturliga vatten). De mikroorganismer som lever i biofilmen är morfologiskt och fysiologiskt olika fritt svävande bakterier då livsbetingelserna är helt annorlunda i biofilmen. Bakterier i en biofilm aktiverar bl.a. gener för stressrelaterade proteiner i högre grad än bakterier odlade i en näringsbuljong och man har även kunnat konstatera att bakterier i biofilmer uppträder helt annorlunda än bakterier som svävar fritt. Jämfört med mikroorganismer i vattenfasen är de som förekommer i biofilm betydligt mer motståndskraftiga mot desinfektionsmedel antibiotika och förhöjd temperatur. Biofilmen utgör även en livsmiljö som skyddar bakterien från predation samt ökar tillgängligheten för begränsande näringsämnen och organiskt kol. Nativa (naturligt förekommande) bakterier förefaller överleva bättre i biofilm än introducerade. Svårigheter att ingå i biofilmen kan bero på dålig vidhäftningsförmåga, konkurrens från den etablerade biofilmen eller svårigheter att anpassa sig till förändringar i näringstillgång och tillgång på organiska molekyler (Janakiraman & Leff 1999).

3.2.3 Naturlig nisch i öppna ekologiska system

I naturen råder öppen konkurrens, vilket innebär en ständig tävling om att få åtkomst till begränsade resurser. Den naturligt förekommande mikrofloran utsätts kontinuerligt för näringsbegränsning och perioder av svält. Detta innebär att de flesta mikroorganismer som introduceras i en miljö konkurreras ut och dör, då den befintliga organismfloran är anpassad till de rådande miljöbetingelserna och på så vis har ett försprång i konkurrensen om näring. Ett exempel är olika typer av mikroorganismer som används för sanering (bioremediering) av förorenade markområden. Dessa organismer har utvecklat en förmåga att metabolisera kol- och energikällor, som andra mikroorganismer inte kan använda sig av. Detta innebär en stor konkurrensfördel för den aktuella organismen. Olja, polycykliska aromatiska kolväten (PAHer) och radioaktivt avfall är några exempel på toxiska föroreningar som har visat sig kunna användas som tillväxtsubstrat av vissa typer av organismer.

3.2.4 Överlevnad i värddjur

Mikrobiell överlevnad i en värd/reservoar¹⁶ kan förekomma i många varianter, där värden kan vara allt från lågt stående organismer tillhörande släktet protista (svamp, plankton, protozo), vilket exemplifieras nedan, till däggdjur inklusive människa.

Olika typer av protozoer är intressanta dels för att de fungerar som reservoarer för potentiella smittämnen, dels som predatorer av desamma (Rodriguez-Zaragoza 1994). Fokus i forskningen har därför delvis flyttats från att studera de patogena egenskaperna hos protozoerna till deras roll som vektor för patogena bakterier, där en komplex relation inträffar mellan amöba och bakterie i biofilm. Protozoer finns vitt spridda i miljön och kan återfinnas i de flesta matriser. Protozons huvudsakliga strategi för överlevnad är dels en cystformation, dels produktion av mindre men numerärt fler organismer. I jord återfinns de främst i näringsrik jord i porer av storleksordningen 2-10 µm men exempel finns på att cystor kan överleva i näringsfattig ökenjord under långa perioder.

Egenskapen att invadera och växa inne i protozoerna har troligen utvecklats genom att bakterierna och dess predatorer, protozoerna, har levt i nära interaktion i s.k. biofilmer. Vissa bakterier har som svar på det hot som de ätande amöborna utgör, utvecklat en strategi

¹⁶ Begreppsförvirring råder angående hur dessa begrepp definieras. Enligt CDC utgör en reservoar ett ekologiskt system (växter, djur eller människa) där en mikroorganism lever, tillväxer och förökar sig. En värd är en levande organism som kan infekteras av en mikroorganism. Till skillnad från värden insjuknar normalt inte reservoaren, men ibland kan dock samma organism både utgöra värd och reservoar vilket komplicerar det hela.

för att överleva och till och med döda amöban. Vissa selektiva endosymbiotiska¹⁷ bakterier infekterar endast vissa nära besläktade amöbaarter medan andra är mindre urskiljningslösa i valet av värd (Winiecka-Krusnell & Linder 2001).

I miljöprover som analyserats med avseende på av protozoinehåll har upp till 25 % påvisats innehålla bakteriella endosymbionter. De fördelar för en bakterie som finns med att tillväxa i amöba är bl.a.

1. Det har föreslagits att intracellulär tillväxt (inuti) protozo/amöba hjälper bakterien att lättare anpassa sig till senare överlevnad i däggdjursceller inklusive makrofager¹⁸. Den tillbringade tiden i amöba kan ses som en generalrepetition för att bättre kunna infektera immunförsvarets fagocyter¹⁹.
2. Inkorporering i amöba ökar resistensen för olika typer av ogynnsamma miljöförhållanden som desinfektionsmedel och antibiotika.
3. Anpassningsperioden (adaption) i amöban kan leda till ökad virulens, d.v.s. ökad förmåga att orsaka sjukdom (exempelvis *Legionella pneumophila*, Inglis et al 2000).

Några exempel på bakterier som kan överleva i protozoer visas i tabell 4. Det mest studerade exemplet på mikrobiell överlevnad i FLA (Free Living Amoebas) är relationen amöba- *Legionella* sp. Det har bl.a. visat sig att *Legionella* bakterier som tillväxt i amöban *Acanthamoeba* har kortare generationstid²⁰ samt ändrad morfologi jämfört med bakterier som tillväxt extracellulärt. Dessa bakterier har även visat sig vara mer invasiva (aggressiva) för makrofager och epitelceller samt mer patogena i djurmodell. Mekanismerna för igenkänning, passage och intracellulär proliferation i amöba förefaller vara besläktade med samma mekanismer i däggdjursceller, vilket visat sig genom att flera bakterier som kan överleva i amöba även kan överleva och tillväxa i makrofager. Amöban i sin tur förefaller vara mindre känslig för yttre påverkan som t.ex. antibiotika med *Legionella* inuti sig. Också plankton och zooplankton har visat sig ha betydelse för olika arter av *Vibrio cholerae*, se även kapitel 3.3.2.5.

¹⁷ En endosymbiont är en organism som lever inuti en annan organisms celler.

¹⁸ Makrofager är stora celler som är verksamma i immunförsvaret och har förmåga att uppta andra celler och fagocytera dessa.

¹⁹ Fagocytos är den process varvid immunförsvarets celler (makrofager, monocyter, neutrofiler etc) känner igen kroppsfrämmande ämnen och upptar (äter upp) dessa och smälter ner dem.

²⁰ Generationstiden avser tiden mellan en föräldrageneration och en ny vuxen avkomma. Generationstiden är relaterad till kroppstorlek och påverkar populationens åldersstruktur.

Tabell 4. Bakterier²¹ som kan överleva i protozoer.

Bakterie	Protozo	Referens
Kategori A		
<i>Francisella tularensis</i>	<i>T. pyriformis</i> , <i>A. castellani</i>	(Brown et al 1999, Berdal et al 1996, Abd et al 2002)
Kategori B		
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	<i>Acantamoeba spp.</i>	(Inglis et al 2000)
<i>Coxiella burnetti</i>	<i>Acantamoeba castellani</i>	(La Scola & Raoult 2001)
Kategori B*		
<i>Escherichia coli</i> 0157	<i>Acantamoeba polyphaga</i>	(Winiacka-Krusnell & Linder 2001)
<i>Legionella spp.</i>	<i>Acantamoeba spp.</i> (<i>Hartmanella</i> , <i>Naegleria mflr.</i>)	(Brown et al 1999, Harb et al 2000)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Acantamoeba</i> och <i>Tetrahymena pyriformis</i>	(Brown et al 1999, Winiacka-Krusnell & Linder 2001)
<i>Salmonella typhimurium</i>		(Foster & Spector 1995)
<i>Shigella</i>	<i>A. castellani</i>	(Winiacka-Krusnell & Linder 2001)
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Acantamoeba</i> och <i>Naegleria spp.</i> , <i>N. gruberi</i>	(Brown et al 1999, Winiacka-Krusnell & Linder 2001)

* Vatten- eller livsmedelsburna

3.3 Exempel på olika mikroorganismers förmåga till överlevnad

3.3.1 Kategori A- organismer

3.3.1.1 *Bacillus anthracis*

Bacillus anthracis, är en aerob²², grampositiv, stavformad bakterie som orsakar mjältbrand. Bakterien kan existera i vegetativ form eller som sporer. *B. anthracis* är en zoonos som uppträder i olika delar av världen och periodiska utbrott/epidemier sker regelbundet, främst bland nötboskap och får. Sjukdomen uppmärksammades först bland vilda djurbesättningar i södra Afrika. I naturen är mjältbrand densitetsberoende²³ och därför självbegränsande.

De vegetativa *B. anthracis* cellerna är relativt känsliga för ogynnsamma miljöförhållanden, medan antrax i sporform kan överleva mycket länge. Det som styr sporbildningen i naturen är främst temperatur, syretillgång samt tiden. Sporbildning kan påbörja redan inuti ett infekterat levande djur men avstannar när syrehalten sjunker. När djurkadavret öppnas av antingen människa eller asätare så upptas sporuleringen igen. Detta tros bl.a. ske i blod- och vätskeansamlingar runt kadavret då *B. anthracis* kräver en viss omgivande proteinhalt för att inte cellerna ska hinna lysa²⁴ innan sporen har färdigbildats. Vid inkubation av viabla (levande) celler i rent vatten sker avdödningen snabbt, inom 24 timmar minskar mängden till nivåer under detektionsgränsen (Atlas 2002). Om tiden mellan det att ett djur dör och öppnande sker är så lång att förruttnelseprocessen hinner gå för långt (temperaturer över 25-30°C), dör bakterien inom ca 3 dagar, då den inte kan konkurrera med omgivande nedbrytningsbakterier. Om temperaturerna däremot är låga (5-10°C), kan bakterierna klara sig i upp till 4 veckor inuti kadavret (Hugh-Jones & de Vos 2002). Antalet sporer som frigörs beror följaktligen på hur snabbt kadavrets innanmäte får kontakt med omgivande luft.

²¹ I detta fall avses med bakterier, sådana som finns med på CDCs kategori A samt kategori B-lista.

²² Aeroba bakterier kräver syre för sin överlevnad.

²³ Ekologisk densitet = antalet individer / tillgänglig (användbar) yta. Densiteten bestäms av: energi, resurser, stress, spridning samt produktivitet.

²⁴ En skada på cellmembranet och/eller cellvägg, vilket leder till att cellen spricker och dör.

Mjältbrandssporerna förekommer naturligt i jord och vatten i endemiska områden och kan spridas vidare via tre skilda cykler; flugor (the kudo/blowfly cycle), hyenor (carcass/predator cycle) och asgamar (vulture/water hole route). Det har bl.a. visat sig att sporer passerar i stort sett opåverkade genom matsmältningssystemet hos gam, medan de vegetativa formerna av bakterien förstörs (de Vos 1990). När gamen senare besöker ett vattenhål kan smittan spridas vidare till andra djur genom avföring eller via vattnet.

Mjältbrandssporernas överlevnad i miljön beror av det initiala antalet sporer och den omgivning de hamnar i. Klimat, topografi, övrigt mikrobiellt liv, förekomst av kemikalier samt växtlighet är faktorer som kan påverka överlevnaden. Normalt tros inte sporer överleva mer än tre år i det fria, medan överlevnaden ökar om de t.ex. är nedgrävda (Hugh-Jones & de Vos 2002). Högt pH och hög kalciumhalt tros gynna lång överlevnad i jord. Laboratieförsök har visat att *B. antracis* överlever minst 60 år i torr jord (Wilson & Russel 1964). Man har också återfunnit 40 år gamla sporer på jordprover från Gruinard Island, där bomber laddade med mjältbrandssporer testades på 1940-talet (Manchee et al 1983). Efter omfattande sanering kunde Gruinard förklaras smittfri 1990 (Willis 2002). Vid en arkeologisk utgrävning i Krugerparken i Sydafrika har *B. antracis* med bibehållen virulens återfunnits i 200 år (± 50 år) gamla ben.

Det senast kända fallet av mjältbrand hos djur i Sverige påvisades 1981. En tidigare använd gödselstad, där kadaver hade begravts, grävdes upp och betande djur kom i kontakt med sporer (Andersson et al 1999).

3.3.1.2 *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum är en strikt anaerob²⁵ grampositiv, stavformad, toxinbildande bakterie, som även kan bilda sporer. Såväl bakterier som sporer kan återfinnas i jord, i djurexkrementer och i bottensediment i olika vattendrag. Toxinbildning sker i samband med att sporer bildas.

Toxinet sprids vanligtvis till människa via felaktigt tillredd föda. Smitt dosen är extremt låg. Sedan 1969 har drygt 10 fall av botulism rapporterats i Sverige, där kryddsill, rökt lax samt gravad fisk angetts som smittkälla (Andersson et al 1999). Även djur kan förgiftas av toxinet och i naturen förekommer regelbundna utbrott bland bl.a. fåglar (Kadlec 2002).

3.3.1.3 *Yersinia pestis*

Yersinia pestis är en gramnegativ stavformad bakterie som orsakar pest (även kallad digerdöden eller svarta döden). Flera olika gnagare fungerar som reservoar för bakterien, med olika typer av löss som vektor. Människan smittas i regel via cykeln gnagare-lus-gnagare, men sekundärsmitta person till person kan även ske. Inne i kroppen överlever och replikeras (förökar sig) bakterien i makrofager. Sjukdomen förekommer inte i Sverige idag men finns naturligt i Asien, Afrika och i Nordamerika. Flera epidemiska utbrott har rapporterats under 1990-talet, bl.a. i Indien och på Madagaskar. Sverige drabbades senast av pestutbrott på 1800-talet.

På Madagaskar har sjukdomen fått förnyad uppmärksamhet på senare år p.g.a. oväntade utbrott i kuststaden Majunga, som varit fri från pest i över 60 år. Pest har sedan slutet av 1800-talet varit endemiskt i Madagaskars inland, på höjder över 800 meter, och fall har regelbundet rapporterats från högt belägna byar. Utbrotten förekommer främst mellan

²⁵ Anaeroba bakterier kräver syrefri miljö för sin överlevnad.

oktober och mars, vilket är den varma regniga säsongen på höglandet och då även frekvensen av loppor och löss är som högst. I Majunga, där klimatet skiljer sig avsevärt från höglandet, har de senaste årens utbrott däremot inträffat mellan juni och oktober, som är de kallaste och torraste månaderna. Det verkar alltså som om förutsättningarna för utbrott skulle vara olika mellan de båda lokalerna, bortsett från att minimitemperaturen är den samma (ca 17-22°C, Chanteau et al 2002, Boiser et al 1997). Reservoiren för pestbakterien på Madagaskar är två olika råttarter, *Rattus rattus* (svartråtta, vanligast på höglandet) och *Rattus norvegicus* (tamråtta, vanligast i Majunga). Vektorer för smittan är råttloppan *Xenopsylla cheopis* och den endemiska lusen *Synopsis fonquerni*. Även näbbmusen *Suncus murinus* har noterats bära *X. cheopis*, och är den mest fångade gnagaren i de fällor som utplacerades i staden (Chanteau et al 1998, Boisier et al 2002). Antalet fall i Majunga har inträffat i störst utsträckning i den fattigaste stadsdelen, nära en marknadsplats. Det är ännu oklart hur *Y. pestis* har lyckats återetablera sig men sannolikt har smittan initialt transporteras från höglandet via t.ex. jordbruksprodukter till marknaden. Att detta skulle ha kunnat ske fyra år i rad²⁶ är däremot mindre sannolikt, vilket tyder på att *Y. pestis* har etablerat sig i området. *Y. pestis* har även påvisats i VBNC, vilket skulle kunna förklara hur den överlever i jord under ogynnsamma perioder (Suchkov et al 1997).

3.3.1.4 *Francisella tularensis*

Francisella tularensis är en gramnegativ stavformad aerob bakterie som orsakar harpest (tularemi). Harpest är en zoonos som främst drabbar olika gnagare, men smittan kan på flera olika sätt överföras till människan. Infektionsdosen vid inandning är mycket låg, så lite som 10 bakterier kan orsaka sjukdom (McCrum 1961). Virulensen varierar mycket mellan olika subspecies (underarter). Den mest virulenta varianten, *F. tularensis* subspecies *tularensis*, finns framförallt i Nordamerika. I Skandinavien förekommer den mindre virulenta varianten *F. tularensis* subspecies *holarctica*, som ger en liknande sjukdomsbild men praktiskt taget ingen dödlighet (< 1 %).

Bakterien har en till stora delar okänd livscykel och den naturliga reservoiren är okänd. Bärare av sjukdomen i Sverige är i första hand skogshare (*Lepus timidus*), lämmel, sork samt troligen bäver (Andersson et al 1999). *F. tularensis* är en fakultativt intracellulär²⁷ bakterie och replikeras huvudsakligen i makrofager. Nyligen har även tillväxt i amöba (*A. castellanii*) påvisats (Abd et al 2003). Den har rapporterats kunna ingå i ett VBNC-tillstånd men kan ej revertera därifrån till ett virulent tillstånd (Forsman et al 2000).

Fästingar och mygga fungerar som den vanligaste vektorn²⁸. I Centraleuropa är fästingar som *Ixodes ricinus* och *Dermacentor reticulatus* vanligast (Vyrostekova et al 2001, Ellis et al 2002) medan de vanligaste vektorerna i det forna Sovjetunionen är dels *Anopheles*-myggan, dels fästingar.

I Sverige rapporteras fall framför allt från Norrland, men organismen finns i såväl Götaland som Svealand. Förekomsten varierar starkt år från år men en svag korrelation till s.k. gnagar- eller lämmelår har påvisats (Tärnvik et al 1996). *F. tularensis* kan överleva länge, upp till 16 månader i olika vattenmiljöer²⁹. I en omfattande amerikansk undersökning från 1950 talet, togs under en 16 månaders period ca 1200 vattenprover från ett avrinningsområde i Montana som analyserades med avseende på *Francisella*. Av dessa var

²⁶ 1995, 1996, 1997, 1998.

²⁷ Kan växa både utanför och inne i celler.

²⁸ Djur eller organism som fungerar som smittoöverförare.

²⁹ Bl.a. floder, flodmynningar, fjällbäckar, stagnanta vattensamlingar och träskmark.

58 % positiva³⁰. Positiva prover kunde därefter påvisas 16 månader i följd från ett av vattendragen (Parker et al 1951). Ett flertal vattenburna utbrott har också inträffat, bl.a. i Norge (Berdal et al 2000 & Berdal et al 1996), Italien (Greco et al 1987) och i Spanien (Anda et al 2001) där de förstnämnda kunde associeras till lämlar och de två senare till infekterade harar.

Studier över överlevnad i spannmål har visat att *F. tularensis* kan överleva i vete 133 dagar vid temperaturer mellan 8-15°C. Motsvarande tid för överlevnad i hö har uppmätts till 671 dagar under naturliga klimatförhållanden (årstidsvariationer). *F. tularensis* kan även överleva länge i frusen form utan att virulensen påverkas. Bl.a. har levande bakterier kunnat påvisats upp till 3 månader inuti frysta djurkadaver som avlidit av harpest. Spannmål infekterat med *F. tularensis* överlevde vid -5°C i 192 dagar (Pomanskaia 1956).

3.3.1.5 *Variola major*

Variola major är ett s.k. poxvirus som orsakar smittkoppor, en extremt smittsam sjukdom. Virusets enda naturliga reservoar är människan. Dess ursprung tros vara den indiska subkontinenten och viruset uppstod förmodligen från någon besläktad zoonos av typen poxvirus. Viruset sprids främst som droppsmitta men spridningen kan även vara luftburen. Efter en intensiv kampanj för att utrota viruset förklarade världshälsoorganisationen (WHO) 1980 världen fri från smittkoppor. Det senaste svenska utbrottet av smittkoppor inträffade 1963, och orsakades av en importsmitta. De enda som idag tillåts inneha viruset är ett laboratorium i USA och ett i Ryssland (Tegnell et al 2002). Viruspartiklarna är mycket stabila både i vätskeform och i uttorkad form. Intorkat på glasplatta lever viruset över tre månader i mörker och över en månad i ljus (Forsman 1998).

3.3.1.6 *Virala hemorragiska febrar*

Blödarfeber eller virala hemorragiska febrar (VHF) orsakas av flera olika RNA-virus³¹ som sinsemellan inte alls behöver vara besläktade. Likaså varierar spridningsvägarna och vektorerna, och den geografiska utbredningen skiljer sig också åt. Samtliga virus ger upphov till en febersjukdom med varierande inslag av blödning. De flesta är zoonoser, och viruset är beroende av en naturlig reservoar för sin överlevnad. Några exempel på virala hemorragiska febrar ses i tabell 5 nedan (Center for Disease Control and Prevention 2003, Smittskyddsinstitutet 2003).

Tabell 5. Exempel på virala hemorragiska febrar (Smittskyddsinstitutet 2003).

Sjukdom	Virusfamilj	Vektor	Värd/Reservoar	Utbredningsområde
Lassafeber	Arenavirus	Luftsmitta	Råtta	Västafrika
Rift Valley-feber	Bunyavirus	Mygga	Okänd	Afrika
Krim-Kongo HF	Bunyavirus	Fästing	Flera däggdjur	Balkan, Afrika, Indien
Gula febern	Flavivirus	Mygga	Människa, apa	Afrika, Sydamerika
Marburg, Ebola	Filovirus	Okänd	Okänd	Afrika
Puumala	Hantavirus	Luftsmitta	Skogssork	Europa, Asien

Smittspridningsvägarna är inte fullständigt klarlagda. I vissa fall kan smittan överföras till människa direkt från djur, t.ex. apor, eller från person till person. I andra fall sprids smittan troligen med insekter. Smittan kan troligen även i en del fall vara luftburen (aerosol). I Sverige saknas som regel vektor respektive värdjur för de flesta VHF, varför det inte finns någon förutsättning för naturliga epidemiska utbrott. Ett undantag är sorkfeber, som sprids

³⁰ Påvisat genom infektion av marsvin.

³¹ Arenavirus, Filovirus, Bunyavirus och Flavivirus.

via skogssork (*Clethrionomys glareolus*). Smittspridning sker framförallt via inandning av damm som förorenats av sorkars urin och avföring (Olsson et al 2003). Sjukdomen smittar inte direkt från människa till människa.

3.3.2 Kategori B-organismer

3.3.2.1 *Burkholderia pseudomallei*

Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei är en aerob, gramnegativ stavformad (2-5 µm lång och 0,4-0,6 µm bred) bakterie som orsakar meliodios. Sjukdomen finns i jord och vatten och sprids med ett flertal djurarter, bl.a. får, getter, hästar, svin apor och gnagare men den naturliga reservoaren är inte känd. *B. pseudomallei* förekommer inte naturligt i Sverige, men förekommer i stora delar av världen och är endemisk i bl.a. norra Australien och i Sydostasien. Två serologiskt olika typer existerar, som skiljer sig åt genom förekomst eller icke förekomst av ett termolabilt och ett termostabilt antigen³². Serotyp 1 som har båda antigenerna är vanligast i Asien, medan Serotyp 2 som endast har den termostabila antigenen, främst förekommer i Australien och Afrika (Yang 2000).

I miljön finns ett flertal variabler som antas påverka utbredningen av bakterien i jord såsom klimatologiska faktorer och jordens sammansättning. *Burkholderia pseudomallei* har visat sig tåla långa perioder av näringsbrist och relativt sura miljöer. Bakterien har kunnat isoleras (odlas) från miljöer med pH mellan 2-9 (Dance 2000). Bakterien har även utvecklat en förmåga att invadera och överleva i protozoer i den jord/ytvattenmiljö där bakterien normalt återfinns och där det finns riklig tillgång på amöbor (Inglis et al 2000). De vanligaste lokalerna där bakterien återfunnits i miljöprover är risodlingar och andra röjda/kultiverade ytor. I urbana miljöer har fall av meliodios kunnat kopplas till konstbevattnade idrottsplaner.

Överlevnad i upp till 36 månader i jord och destillerat vatten i laboratoriemiljö har visats. Vid ett utbrott i Frankrike på 1970-talet fanns bakterier kvar i jord flera år efter utbrottet. Bakterien har återfunnits i flera typer av jordar men verkar främst föredra fuktiga lerjordar (Inglis et al 2001). Ytprover av jord visar sig sällan innehålla bakterien, medan prover tagna på lerjord i Australien visade att positiva prover vanligtvis var tagna på mellan 25-45 cm djup. Prover tagna i Thailand visade att mängden bakterier ökade med ökande provtagningsdjup under regnperioden medan den var tämligen konstant 30-60 cm under torrperioden. I Thailand, såväl som i Australien har det konstaterats att meliodios förekommer i högre incidens³³ under den nederbördsrika säsongen än under torrperioder. Vid kraftiga regn sker en anrikning av bakterier i jorden, då bakterien transporteras uppåt i marken allteftersom grundvattennivån höjs. Därvid möjliggörs exponering för bakterien via jord, luft eller vatten.

Bakterien förefaller vara relativt tålig mot UV-ljus, men i laboratoriemiljö har *B. pseudomallei* visat sig vara mera känslig för solljus än den normala markbakteriefloran. Temperatur förefaller också vara en faktor av avgörande betydelse, vilket skulle förklara varför bakterien vanligtvis främst återfinns i tropiska områden (Dance 2002 & 2000) även om förekomst påvisats även i kyligare områden. Undersökningar i endemiska områden i Kina har visat att man endast har lyckats isolera bakterien i miljöprover de perioder när

³² Ett antigen är en del av ett protein som kan påverka kroppen att producera antikroppar eller cellrelaterade reaktioner (immunreaktion).

³³ Antal nya sjukdomsfall under en viss tidsperiod.

medeltemperaturen har varit över 12°C. I laboratoriemiljö har dock bakterien visats kunna överleva temperaturer på 0°C i 18 dagar (Yang 2000). Det har även föreslagits att bakterien kan ingå i ett VBNC-stadium (Oliver 2000).

Bakterien har visat sig kunna orsaka infektion i människa upp till 26 år efter första exponeringstillfället, vilket har förklarats av att den har en förmåga att överlevnad i makrofager (fakultativt intracellulär). Anpassning (adaption) i amöba antas generellt öka möjligheter till intracellulär överlevnad hos mikroorganismer (Inglis et al 2000). Ett utbrott under en torrperiod i västra Australien indikerade att smittan kom via vattendistributionssystemet (Inglis et al 1999). Förekomst av *Achantamoeba* såväl som *Hartmanella* och *Valkampfia* kunde noteras i kliniska prover under utbrottet men det är osäkert om det kan användas som indikator på förekomst av meliodiosrisk (Inglis 2001).

3.3.2.2 *Burkholderia mallei*

Burkholderia mallei (*Pseudomonas mallei*) är en aerob, gramnegativ stavformad bakterie (1-5 µm lång och 0,5-1,0 µm bred) som orsakar rots (eng. glanders). Den enda kända naturliga värden är häst, men även mulor, åsnor samt vissa andra varmblodiga djur³⁴ kan smittas, varpå djurens luftvägar och hud angrips av bakterien. Smittämnet kan angripa människan bl.a. genom kontakt med utsöndringar och sekret från angripna djur. Infektionsdosen är mycket låg, och laboratoriesmitta är heller inte helt ovanligt. *B. mallei* nära besläktad med *B. pseudomallei*, men till skillnad från den saknar *B. mallei* flageller och motilitet, vilket innebär att den ej klarar av att vara frilevande i mark och vatten någon längre tid. Överlevnad upp till två månader utanför sitt värddjur har dock påvisats. Stränga karantänregler har medfört att rots har utrotats i de flesta länder, men sjukdomen förekommer fortfarande i vissa länder i Mellanöstern, Afrika och Asien (Asche & Haase 2002). Sjukdomen har inte påvisats i Sverige sedan 1943 (Smittskyddsinstitutet 2003).

3.3.2.3 *Brucellabakterier*

Brucellabakterier är aeroba gramnegativa stavformade bakterier. Det finns flera typer av brucellabakterier som samtliga är zoonoser men som även kan smitta människa. *Brucella abortus* angriper i första hand nötkreatur, *B. melitensis* får och get, medan *B. suis* främst ger infektion hos svin. Brucellos hos människa kallas ibland för undulantfeber eller Maltafeber. Människan smittas främst via direktkontakt med infekterade djur eller via opastöriserade mejeriprodukter. För närvarande finns ingen inhemsk brucellos i Sverige. Det senaste fallet av brucellos bland djur rapporterades 1957 (Andersson et al 1999).

Brucella sp. förmodas ha relativt kort överlevnad i naturliga miljöer och saknar naturliga reservoarer utanför sin däggdjursvärd (Ficht 2003). Desto mer utvecklad är förmågan till intracellulär överlevnad i makrofager. Studier i djurmodeller har visat att bakterien kan överleva latent flera månader i bl.a. lymfvävnad, och över tiden blir den svårare att detektera. Orsaken tros vara en förmåga till nedsatt metabolisk aktivitet och tillväxt, liknande VBNC. Återinfektion kan därefter inträffa utan någon synlig yttre förklaring.

3.3.2.4 *Coxiella burnetti*

Coxiella burnetti är en intracellulär parasit, rickettsie³⁵, som orsakar Q-feber. Q-feber är en globalt förekommande zoonos och rickettsien förekommer i minst 63 länder (Norlander 2000). Infektionsdosen är mycket låg, uppskattningsvis mellan 1-10 bakterier.

³⁴ Exempelvis djur på zoo, som smittas via infekterat hästkött.

³⁵ Typ av bakterie som inte kan föröka sig utanför sin värdcell.

C. burnetti är strikt intracellulär organism vilket innebär att den behöver eukaryota celler för tillväxt. Den förekommer i två oberoende men överlappande cykler i naturen, nämligen hos:

1. vilda djur och deras ektoparasiter³⁶
2. tamboskap, främst får, getter, nötboskap och smågnagare.

Den primära reservoaren är fästingar, som sprider *C. burnetti* från vilda till tama djur och mellan djur. Djuren är symptomfria bärare, bara människa insjuknar.

I Sverige finns *C. burnetti* bl.a. i vissa fårbesättningar på Gotland, men endast två inhemska fall har diagnostiserats. De flesta fall som påträffats har varit importfall. Serologiska studier har dock visat att ca 30 % av fårfarmarna i de östra delarna av Sverige bär på antikroppar mot sjukdomen samt 13 % av veterinärkåren (Rustscheff et al 2000).

Ett infekterat får sprider *C. burnetti* vid lammning (placenta och kroppsvätskor). En infekterad placenta kan innehålla upp till 10^9 bakterier/g vävnad (La Scola & Raoult 2001). *C. burnetti* är mycket motståndskraftig mot yttre miljöfaktorer och kan därför överleva lång tid i miljön. Den har påvisats kunna överleva i en sporlik form i vacuoler³⁷ hos *A. castellani* i jord.

Smittöverföring till människa sker oftast via luftburen aerosol (damm) i områden som förorenats av placentavävnad, fostervätskor och exkrementer från djur. Smittsamt damm kan föras kilometervis med vinden och undersökningar har visat att det finns signifikant fler fall av Q-feber bland populationer som bor medvindsmittade djurs betningsområden där utbrott har inträffat (La Scola & Raoult 2001). Smittan kan också ske via direkt kontakt med infekterade djur och förorenade djurprodukter, t.ex. ull, hö och gödsel

3.3.2.5 *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae är en aerob, gramnegativ bakterie som orsakar kolera³⁸. Sjukdomen förknippas med undermåliga sanitära förhållanden och sprids vanligtvis via infekterat vatten. Relativt mycket är känt om dess naturliga livscykel. *V. cholerae* förekommer naturligt och har återfinnas i princip alla delar av världen där det finns flod- och kustlandskap. I vattenmassan förekommer bakterien frilevande, i biofilmer samt associerad till zooplankton³⁹, kräftdjur och växter. Faktorer som påverkar förekomsten av kolera i miljön är till stora delar klimatstyrda. Varma temperaturer och höga pH-värden gynnar tillväxt liksom förekomst av järn⁴⁰. Bakterien är även förhållandevis tålig mot soljus. Optimal salthalt är 5-25 ‰, men tillväxt kan ske utan närvaro av salt (om natrium finns närvarande) samt vid salthalter upp till 45 ‰ (med närvaro av löst organiskt material). Faktorer som solljustemperatur och näringsämnen påverkar i sin tur tillväxten av fytoplankton⁴¹ och växter och vidare en ökning av pH-värdet och tillväxt av zooplankton i vattenmassan, se figur 4.

³⁶ En ektoparasit är en extern parasit, t.ex. löss.

³⁷ En vacuol är ett vätskefyllt hålrum inuti cellen.

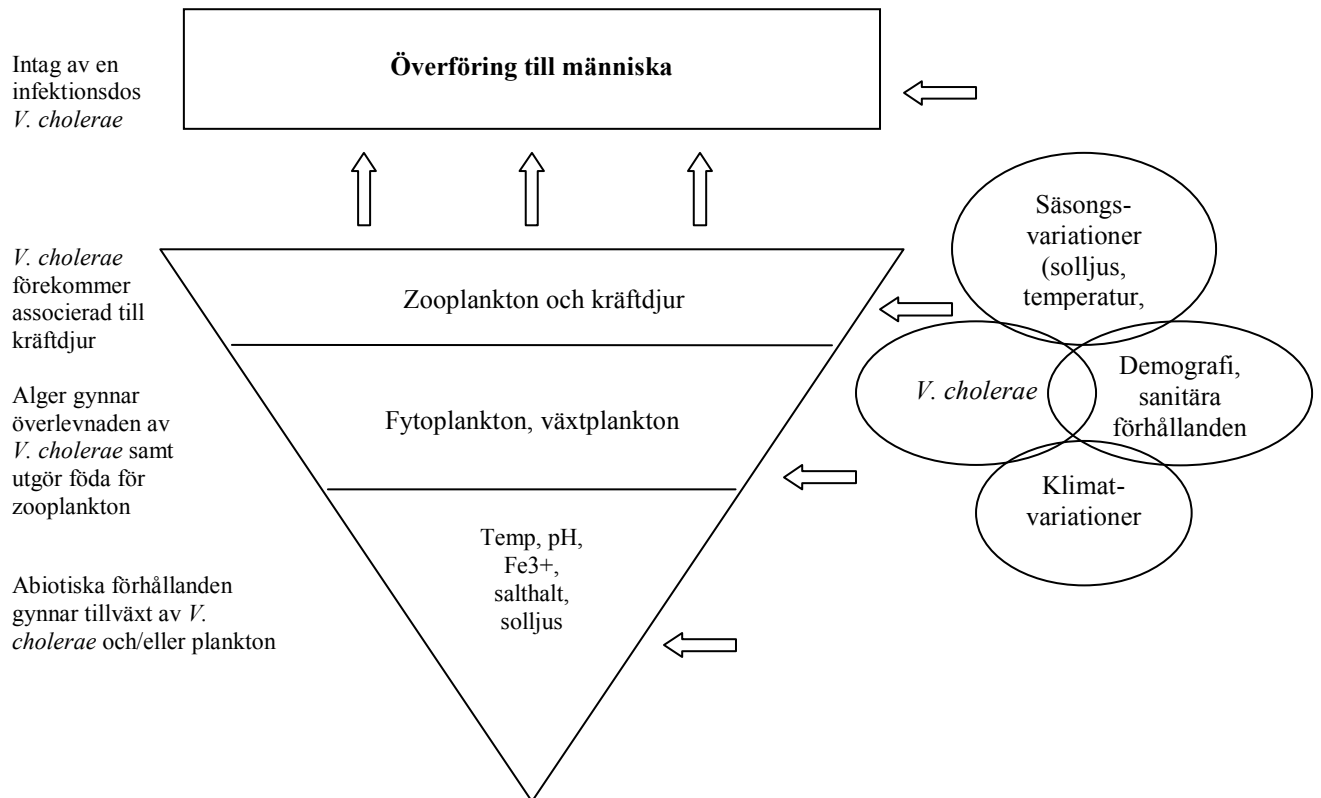
³⁸ Det finns ca 200 olika typer av kolera, bl.a. klassisk kolera (*Cholera asiatica*) och *Vibrio cholerae* 01, biotyp *El Tor*. En nyligen upptäckt serotyp som getts mycket uppmärksamhet på senare år är O 139.

³⁹ Djurplankton.

⁴⁰ Även oorganiskt järn (Fe^{3+}), då bakterien har förmåga att uppta sådant järn som är oåtkomligt för andra organismer.

⁴¹ Fritt kringflytande mikroalger i sött eller salt vatten.

Efter adhesion till zooplankton kan *V. cholerae* tillväxa skyddade från den yttre miljön. Varje enskilt zooplankton kan innehålla mellan 10^4 - 10^6 vibrioceller, vilket innebär att intag av så lite som ett djur kan vara tillräcklig mängd för att orsaka infektion hos människa. Det har därför förslagits att kolera bör anses vara en vektorburen sjukdom (Lipp et al 2002).



Figur 4. Hierarkisk modell för koleratransmission i miljön, efter Colwell & Huq (1994).

3.3.3 Växt- och djursjukdomar

Förutom de smittämnen som kan användas som potentiella biologiska stridsmedel mot människa så finns även ett antal djur- och växtpatogener som kan orsaka stor skada för samhället, inte minst ekonomiskt. Nedan ges kortfattat två exempel på sådana tänkbara smittämnen. Se även Whitby (2001), där en review över växtpatogener med potentiell användning som stridsmedel ges. För fler exempel på djurpatogener se t.ex. Stegeman et al (2000) där ett uppmärksammat utbrott av svinpest 1997-1998 i Holland beskrivs.

3.3.3.1 Potatisbladmögel

Potatisbladmögel är en sjukdom som orsakas av svampen *Phytophthora infestans*. Endast växter inom Solanum-släktet drabbas och då främst potatis- och tomatodlingar. På potatis orsakar svampen bladmögel på växtdelar och brunröta på rotknölar. Ursprungligen kommer svampen från Mexiko, varifrån den på 1840-talet spreds till Europa. Idag är potatisbladmöglet spritt till i stort sett alla potatisodlande delar av världen.

Potatisbladmögel orsakar stora skördebortfall där det bryter ut. Det mest uppmärksamade utbrottet av potatisbladmögel inträffade i Irland 1845-1847 och ledde till massvält och

emmigration. Från början förökades bladmöglet i Europa endast genom kloning och förändringar av arvsanlagen skedde bara långsamt genom naturliga mutationer. Bladmöglet kunde inte överleva fritt i fält utan var tvunget att övervintra som mycel i en levande knöl (utsädet). Någon gång under 1970-talet kom det från Mexiko in en ny typ av bladmöglet, kallad A2 som kunde föröka sig sexuellt med det europeiska bladmöglet (A1). Korsningarna mellan A1 och A2 kan bilda en speciellt tjockväggig spor (oospor) som kan leva kvar fritt i marken i flera år. När man odlar potatis finns dessa sporer väl spridda över fältet och de nya plantorna kan angripas så fort väderleken blir gynnsam (fuktigt och varmt). Potatisbladmöglet av A2 typ upptäcktes för första gången i Sverige 1986.

Vindburen spridning av smittan kan ske över stora avstånd. Vindhastigheter på mellan 1-2 m/s är tillräckligt för att sprida oosporer mellan 10-20 km inom tre timmar (Aylor et al 2001). Niederhauser (1991) har visat att oosporer bildade i fält i Mexiko kan överleva två vintrar och fortfarande kunna gro och ge upphov till infektioner. Överlevnad i fält (jord) en vinter har rapporterats från Holland (Drenth et al 1994). I ett sexårigt försök i Holland med oosporer förvarade i sandjord och lättlera under fältförhållanden, konstaterades oosporer överleva och ge upphov till infektioner efter 34, respektive 48 månader (Turkensteen et al 2000). Oosporernas känslighet för kyla förefaller vara mycket låg, och *P. infestans* har rapporterats tåla kyla ned till -80°C under två dygn. Känsligheten för värme verkar däremot vara högre, efter uppvärmning till 40°C under två dygn gav oosporerna inte längre upphov till infektion (Drenth et al 1994). Starkt soljus minskar viabiliten drastiskt (95 % reduktion efter 1,1 timmes exponering (Mizubuti et al 2000). Tillgång till vatten ökar överlevnaden. Oosporer i vatten har visats överleva 8-16 dagar i soljus samt 13-20 dagar i skugga. Inblandning av jord i vattnet ökade överlevnaden (Porter & Johnson 2002). Trots att *P. infestans* oosporer studerats ganska väl är fortfarande de mekanismer som styr dess överlevnad och groning relativt okända.

3.3.3.2 Mul och klövsjuka

Mul- och klövsjuka är en djursjukdom som orsakas av ett litet RNA-virus av virusfamiljen Picornaviridae. Mul- och klövsjuka är en av de mest smittsamma djursjukdomar som finns. Den drabbar alla klövbärande djur som exempelvis nötkreatur, svin, får och getter men även vilda idisslare, bält djur, råttor och igelkott (Meyer & Knudsen 2001).

Mul- och klövsjuka bedöms som oerhört allvarlig på grund av att den medför mycket stora ekonomiska konsekvenser och svårt lidande för djuren. Sjukdomen sprids framförallt från djur till djur och även med vinden, via mjölk- och köttprodukter samt transporter. Människan kan agera passiv vektor och sprida smittan genom redskap, stövlar, kläder m.m. Virus replikerar sig i munhålan och kring klövarna på djuret varvid blåsbildningar sker. När blåsorna brister sprids viruspartiklarna till den närliggande miljön. Svin utsöndrar även stora mängder virus i sin utandningsluft och bidrar därför ofta till vindspridningen.

Överlevnaden hos viruset beror av ett flertal miljö- samt virusrelaterade faktorer. Studier har visat att viruset kan överleva under ca 2 månader på ull i 4°C. Vid 18°C däremot minskade överlevnaden betydligt, vilket beror på att virus-kapsiden⁴² denaturerats⁴³. Studier under varierande förhållanden visar på genomsnittliga överlevnadstider för viruset på upp till tre månader. Dock har det i Omsk i det forna Sovjetunionen visat sig att viruset har överlevt mer än 6 månader under fältförhållanden (Bartley et al 2002). Vindburen

⁴² Kapsiden är det proteinhölje som omger viruspartikeln.

⁴³ Denaturering innebär att proteinets tertiärstruktur förstörs.

spridning av smittan kan ske över stora avstånd. Under ett utbrott i Storbritannien 1981 tros viruspartiklar ha spridits över engelska kanalen ner till norra Frankrike (Meyer & Knudsen 2001).

Sjukdomen är enzootisk⁴⁴ i Afrika, Asien, och delar av Sydamerika medan den inte finns i Nordamerika, Centralamerika, Australien eller nya Zeeland. Under 2001 inträffade det ett största hittills kända utbrottet av mul- och klövsjuka i Storbritannien, där sjukdomen tidigare inte funnits sedan 1981. Epidemin varade i sex månader och sjukdomen spred sig till ytterligare tre länder; Frankrike, Nederländerna och Irland (Davies 2002). Sverige har inte haft utbrott av mul- och klövsjuka sedan år 1966 (Jordbruksdepartementet 2001). Konsekvenserna för Sverige vid ett inhemskt utbrott skulle bli stora, om än inte lika stora som för Storbritannien, då avstånden mellan djurbesättningarna är längre och jordbruket är en proportionellt sett mindre näring i Sverige. Konsekvenserna skulle främst uppstå genom ekonomiskt bortfall p.g.a. exportförbud för svenska köttprodukter men även genom ett stort lidande för djurbeståndet.

3.4 Mikroorganismers spridningsförutsättningar i naturmiljön

Det finns relativt begränsade uppgifter rörande mikroorganismers spridningsegenskaper i mark och vatten. Nuvarande kunskap om bakteriers spridning i mark härstammar främst från kolonnstudier med lysimetrar av olika slag under laboratorieförhållanden samt matematiska modeller byggda på advektions- och dispersionsekvationer där ingående parametrar förenklats jämfört med verkligheten. För exempel på sådana modeller, se kapitel 5. Endast ett fåtal tester av dessa modeller mot laboratedata har utförts och ännu färre fältstudier (Lawrence & Hendry 1996). Detta innebär givetvis att stora begränsningar i existerande bedömningar råder. Exempelvis har det i laboratorieförsök visats att virus som appliceras på en jordyta vanligtvis kvarhålls inom de översta 25 centimetrarna (Berry & Hagedorn 1991) medan det i fältförsök visats på horisontell virustransport på upp till 408 meter och vertikal transport på upp till 67 meter (Yates et al 1985). Motsvarande uppgifter för bakterier är generellt en kvarhållning inom de översta 60 centimetrarna (även om ett flertal exempel på transport ned till grundvattnet finns) samt horisontell transport på över 180 m (Berry & Hagedorn 1991).

Publicerat i öppen litteratur finns mest information från studier rörande transport till och förorening av grundvatten av fekala mikroorganismer⁴⁵ från utsläpp av avloppsvatten. Intresset uppstod efter att man uppmärksammat en koppling mellan vattenburna sjukdomsutbrott och grundvatten förorenat med mikroorganismer av fekalt ursprung. På senare år har även överlevnad samt transportfaktorer för organismer som används för bioremediering (sanering) av förorenad mark samt s.k. bio control agents (biologisk skadedjursbekämpning) givits uppmärksamhet. Däremot saknas studier angående biologiska stridsmedels spridningsegenskaper i mark och vatten i den öppna litteraturen.

Generellt kan sägas att bakterier och virus transporteras vertikalt och horisontellt i marken främst som ett resultat av vattenrörelser. Olika hydrodynamiska faktorer spelar stor roll vid transportprocesserna. Hur vattnet rör sig beror på gravitations- och kapillärkrafter men även på jordens porositet, som är en funktion av jordart, jordmån, jordstruktur, mineralhalt,

⁴⁴ Spridd över stora områden.

⁴⁵ Här avses patogena tarmbakterier.

organisk halt samt markens vegetationstäck. Vattenrörelserna kan ske antingen via små porer eller via större porer, s.k. makroporer. När porerna är helt vattenfyllda betecknas vattenrörelserna som mättat flöde, vilket är det optimala transportförhållandet för mikroorganismer. Omättat flöde inträffar när det finns luftfickor i transportkanalerna, vilket gynnar adsorption till ytor och därmed medför en fördröjning i transporten. Några exempel på fysikaliska och kemiska faktorer som påverkar bakteriers och virus överlevnad i jord visas i tabell 6.

Tabell 6. Abiotiska faktorer som påverkar transport av bakterier och virus i jord (Berry & Hagedorn 1991, Gerba & Bitton 1984, Abu-Ashour et al 1993).

Parameter	Kommentar
Hydrodynamiska förhållanden	Transporten i jord ökar med ökade vattenflöden. Transport vid mättade flöden kan ske upp till 60 gånger snabbare än vid omättade flöden (t.ex. 180 m vs 3 m).
Jordtextur	Retentionen är oftast omvänt proportionell mot jordpartikelstorlek.
Jordens pH	Lågt pH ökar retentionen (bakterier). Adhesionen till jordytor ökar med ökande pH (virus).
Jonstyrka i jorden	En ökning av joninnehåll ökar adhesionsfrekvensen till partiklar
Grundvattennivå	Transporthastigheten ökar med grundvattenytans lutning
Humusämnen	Humusämnen/hög organisk halt kan blockera adhesionen av virus till jordpartiklar

Cellens storlek, form samt cellytans elektrostatiske laddning påverkar adsorptionsförmågan till ytor och storleken transporthastigheten. I sandiga jordar förefaller t.ex. en cellstorlek på ca 1 µm vara optimal för transport. Motiliteten (rörligheten) kan vara en viktig faktor vid mättade flöden medan kemotaxi⁴⁶ spelar större roll vid låga flödes hastigheter (Lawrence & Hendry 1996).

3.5 Förutsättningar för etablering i Sverige

Av tidigare nämnda B-smittämnen finns förutsättningar för att brucellabakterier, *Coxiella burnetii* och *Francisella tularensis* (subspecies *holarctica*) ska kunna förekomma naturligt i Sverige. *Bacillus anthracis* har förekommit som djursjukdom i Sverige, och förekommer sannolikt dormant (vilande) i områden där mjältbrandssjuka kadaver tidigare grävts ned. Dess dokumenterat långa överlevnadstid i sporform talar för dess förmåga att långsiktigt kunna etablera sig i svenska miljöer. Matförgiftningsfall av *Clostridium botulinum* förekommer varje år i Sverige och goda förutsättningar för etablering även av denna organism i dormant form föreligger således.

Enligt Smittskyddsinstitutet finns det för närvarande ingen inhemsk brucellos i Sverige men ett fåtal svenskar smittas varje år utomlands. Inhemska fall av brucellos bland djur inträffade senast på 1950-talet. Q-feber, som orsakas av *C. burnetii*, finns naturligt i Sverige, bl.a. i vissa fårbesättningar på Gotland. Senaste rapporteringen av ett potentiellt inhemskt humanfall skedde 1997.

Inhemska harpestfall förekommer mer frekvent, men antalet rapporterade harpestfall har varierat mycket från år till år. Efter ett år med många fall har det följt några år med få fall, därefter åter ett år med större antal och så vidare. Från 1931, då det första fallet av harpest konstaterades i Sverige, fram till 2003, har över 7000 fall rapporterats. På senare tid har år

⁴⁶ Med kemotaxi menas migration av en cell längs en kemisk gradient.

2000 samt 2003 varit år med många fall, 464 respektive 567⁴⁷, vilket är de högsta antalen rapporterat sedan 1970, då över 3000 fall inträffade.

De flesta fallen av tularemi smittas under senare delen av sommaren och tidig höst. Efter att tidigare år mest ha förekommit inom ett begränsat geografiskt område har det de senaste åren skett en spridning av tularemi in i nya områden. Under 2000 smittades t.ex. nästan hälften av fallen i landsting där tularemi tidigare varit sällsynt. Eftersom perioden då smittan sker är en tid då många vistas på andra orter än hemorten kan det vara svårt att tolka denna trend. I tabell 7 redovisas statistik över inhemska fall av tularemi (smittade i Sverige) mellan 1997-2003 (redovisade per landsting).

Tabell 7. Statistik över inhemska fall av tularemi (smittade i Sverige) mellan 1997-2003 redovisade per landsting⁴⁸ (Smittskyddsinstitutet 2003).

Landsting	År	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003*	Totalt antal fall under perioden
Dalarna		1	3	5	51	3	9	187	259
Gotland		-	-	-	1	-	-	-	1
Gävleborg		1	80	11	161	3	9	110	375
Jämtland		-	-	-	-	1	3	4	8
Norrbottnen		4	1	8	3	3	17	-	3
Skåne		-	-	-	-	-	-	3	36
Stockholm		-	4	6	56	4	8	24	102
Kronoberg		-	-	-	-	-	-	1	1
Södermanland		1	3	3	72	4	11	9	103
Uppsala		-	-	2	6	2	7	8	25
Värmland		-	1	16	13	1	-	34	65
Västerbotten		-	2	16	2	-	11	5	36
Västernorrland		2	5	2	7	-	6	12	34
Västmanland		-	-	-	14	-	24	12	50
Västra Götaland		-	2	1	2	-	3	31	39
Örebro		-	1	4	32	2	38	120	197
Östergötland		-	-	-	6	1	2	7	16
Hela Sverige		9	102	74	426	24	147	567	1350

* = Rapporterade fall t.o.m. 2003-10-31

Av de övriga beskrivna B-organismerna finns ytterligare några som kan tänkas etablera sig i Sverige. En avsiktlig spridning av smittkoppor skulle knappast kunna utgöra något långsiktigt problem, trots det faktum att viruspartiklarna är mycket stabila under lång tid, då någon naturlig värd förutom människan saknas. Lite mer osäkra kort är *Burkholderia pseudomallei*, men mycket talar för att den till skillnad från exempelvis *Yersinia pestis* har förutsättningar för etablering även i kalla klimat. Likaså torde *Francisella tularensis* (subspecies *tularensis*) mycket väl kunna ha goda förutsättningar för att etablera sig i Sverige efter en avsiktlig spridning. Däremot saknas naturliga förutsättningar för etablering i miljön av de flesta virala hemorragiska febrar då Sverige i princip saknar naturliga vektorer/värdjur. Undantaget är sorkfeber, som är endemisk i norra Sverige⁴⁹. Antalet rapporterade fall i Sverige varierade mellan 1987-2002 mellan 111- 487 fall. Fram till och med oktober 2003 hade 86 inhemska fall rapporterats (Smittskyddsinstitutet 2003).

⁴⁷ Rapporterade fall t.o.m. oktober 2003.

⁴⁸ Blekinge, Halland, Jönköping och Kalmar län hade inga rapporterade fall under perioden.

⁴⁹ Sorkfebern är i princip begränsad till områden norr om Dalälven, även om enstaka fall rapporterats från norra Uppland och Västmanland.

3.6 Förslag till fördjupade studier för B

Vi har idag väldigt dålig kunskap om eventuella konsekvenser av ett B-utsläpp på lång sikt i miljön. För att öka vår kunskap om vilka mekanismer som styr överlevnaden av olika biologiska stridsmedel, är det nödvändigt att ringa in den naturliga reservoaren för mikroorganismen i fråga. Utveckling av nya strategier för provtagning av biologiska stridsmedel i fält är också ett angeläget område för utveckling. Det är därför viktigt att en generell kunskapsuppbyggnad beträffande provtagning och B-stridsmedels överlevnad i miljön påbörjas.

Påvisning av smittämnen i fält är helt beroende av provtagning. Problemet är bara att hitta dessa ”hot spots”, där smittämnet eventuellt har anrikats. För att bygga upp vår kunskap inom detta område och därmed vår förmåga att prediktera konsekvenserna av eventuella utsläpp i miljön, föreslår vi fördjupade studier av *Francisella tularensis*. Motivet är att tularemi är endemiskt i Sverige och att den naturliga reservoaren är okänd.

Resultat från studier vid FOI NBC-skydd visar att amöbor infekterade med *Francisella* kan forma cystor med levande *Francisella* bakterier. En hypotes är att amöbor eller cystformen av amöbor är den naturliga reservoaren för *Francisella* i naturen. Tularemi är endemiskt i Sverige och uppkommer typiskt under sommaren, vilket talar för en korrelation med amöbor. Uppvärmning av näringsrikt vatten, framförallt stillastående, ökar bakterietillväxten som i sin tur aktiverar tillväxt av amöbor som naturligt begränsar bakterietillväxten. Ökningen av antalet amöbor eller cystor i slutet av sommaren kan öka spridningen av *Francisella*. Spridning kan ske till myggor, fästingar eller andra blodsugande insekter via dess larver som lever på att filtrera bakterier, plankton och protozoer i vatten eller direkt till smågnagare eller harar som förtär protozoinnehållande fuktigt växtmaterial. Människor kan sedan smittas via insektsbett, dricksvatten eller direktkontakt med sjuka harar eller smågnagare. Mot bakgrund av detta är det viktigt att kunna identifiera platser med högt näringsinnehåll för att kunna lokalisera den potentiella smittkällan.

Sett under de senaste 20 åren, där relativt goda uppgifter om insjuknandeort finns, så är det remarkabelt att vissa begränsade geografiska områden varit mer drabbade än andra. Upprepade utbrott som orsakat ett större antal sjukdomsfall har i setts i framförallt trakterna kring Gävle, Ockelbo, Ljusdal, Färila och i ett område i Västerdalälvens dalgång. Dessutom har det upprepade gånger uppträtt utbrott i trakterna kring Skellefteå, Örebro och Karlstad med ett mindre antal sjuka. Örebro har dock under 2003 haft ovanligt många fall (120 stycken⁵⁰).

Det är inte känt varför dessa områden är mer drabbade än andra, man har sedan lång tid spekulerat i att det har samband med ekologiska förhållanden och framförallt förekomst av vattendrag, men någon smittreservoar i naturen har inte kunnat påvisas. I Sverige har hittills bara den mildare formen av tularemi, Typ B, isolerats. Troligen utnyttjar även den mer virulenta amerikanska formen, Typ A, samma ekologiska nisch, och kanske gör även andra zoonotiska intracellulära biologiska stridsmedel likadant.

⁵⁰ Rapporterade fall t.o.m. oktober 2003.

Arbetet bör innefatta ett flertal olika metoder, bl.a.

- Korrelation av miljödata (exempelvis meteorologi, sorkantal etc) med epidemiologiska data för *Francisella tularensis* i Sverige.
- Provtagningstudier, där lämpliga områden för provtagning är Ljusdal och Örebro
- Serologistudier på människor och djur
- Genetiska, immunologiska och biokemiska undersökningar av miljöprover
- Lysimeterförsök, transportstudier med *Francisella* i lysimeter med olika näringsinnehåll och styrt klimat (klimatkammare).

4. Kemiska stridsmedel

4.1 Inledning och bakgrund

I en tidigare utredning ”Miljöeffekter av kemiska vapen” (Karlsson et al 1998) har spridning, transport i mark, nedbrytning av kemiska stridsmedel samt substansernas toxikologi behandlats. Ambitionen med utredningen var att kartlägga kunskapsläget avseende miljöeffekter av kemiska stridsmedel. Dess fokus var satt mot spridningsmodeller och relation mellan tid efter spridning och koncentration av agens i mark och vatten.

Föreliggande studie av kemiska stridsmedel och deras nedbrytningsprodukter har fokuserat på betydelsen av biotillgängligheten i mark och vatten vid bedömning av risken för uppkomst av toxiska effekter hos växter, djur och människor i samband med t.ex. vistelse i kontaminerade områden eller intag av kontaminerad föda eller vatten. Risken för exponering och upptag av C-ämnen som spridits är naturligtvis mest akut i spridningsögonblicket. Tiden efter utspridning kommer C-stridsmedlen att finnas i mark, vegetation och vatten. Därigenom ges andra förutsättningar för lagring, transport, exponering och upptag. En pågående undersökning av Dr. Yasuyuki Shibata, National Institute for Environmental Studies i Japan (Brevväxling 2003) har visat på förekomst av nedbrytningsprodukter av bl.a. Clark I⁵¹ och Clark II⁵² i grundvatten i anslutning till en flygbas som användes under andra världskriget. Dessa resultat understryker det faktum att det i dag är okänt hur länge ett C-kontaminerat markområde eller vatten ska betraktas som farligt att beträda eller bruka (odling, grundvattentäkt etc). Vidare saknas djupare kunskap om betydelsen av förekomstformen hos kemiska stridsmedel i mark och vatten för deras biotillgänglighet och persistens.

4.2 Spridning av kemiska stridsmedel i naturmiljön

I den litteraturutredning som gjordes för regeringens räkning avseende miljöeffekter av kemiska vapen (Karlsson et al 1998), drogs slutsatsen att det för mark och grundvatten saknas kunskaper på grunddata och processer för transport, adsorption samt kemisk- och mikrobiologisk nedbrytning. Idag fyra år senare kan vi konstatera att dessa kunskapsluckor fortfarande gapar tomma.

Ödet för droppar eller större spill av organiska ämnen som hamnar på marken eller på/vatten bestäms av ämnets ångtryck, dess löslighet i vatten samt av omgivande temperatur. Lättflyktiga ämnen (høgt ångtryck) med låg vattenlöslighet tenderar att avdunsta och en relativt liten andel binds till partiklar och blir kvar i vattnet eller i marken. Vattenlösliga men flyktiga ämnen kan bli kvar bundet under längre tid till jord och växtdelar på och i marken som förorening, till dess att de bryts ner eller transporteras bort från området med regnvatten genom infiltration eller ytavrinning. Ångtrycket för organiska ämnen är mycket lägre när de är i vattenlösning (Manahan 1994, Walker 2001). Således är tidshorisonten för exponering via förorenade partiklar eller förorenat grundvatten lång för ämnen som dels har lågt ångtryck, dels är lösliga i vatten.

⁵¹ Clark I: Difenylkloramin.

⁵² Clark II: Difenylcyanoamin.

4.2.1 Mark och grundvatten

Risken för spridning och varaktig kontamination av mark och grundvatten med kemiska stridsmedel bestäms i första hand av substansernas inneboende egenskaper. Ämnen som sarin⁵³ och soman⁵⁴ har ett relativt högt ångtryck och genomgår lätt hydrolys till mindre giftiga produkter. I fuktig jord hydrolyseras sarin till mer än 90 % av tillsatt mängd inom 5 dagar. Motsvarande uppgift har dock inte hittats för soman, men halveringstiden i vatten är kortare än 60 timmar vid pH 6 (Munro et al 1999, Kopecz et al 1996). Risken för transport av dessa ämnen från markytan ner till grundvattennivån långt efter utspridning kan uppskattas vara låg. Ur miljötoxikologiskt perspektiv kommer vare sig sarin eller soman att utgöra ett hot för människor och djur på längre sikt beroende på deras låga persistens.

VX, som har lågt ångtryck och är löslig i vatten där den har en halveringstid i vatten (25°C och pH 7) på 17 till 42 dagar. Nedbrytningen av VX är dels kemisk, dels biologisk och i jord återstår ca 90 % efter 15 dagar (Munro et al 1999). Den mark 80 km nordväst om Dugway Proving Ground Utah som förgiftades med VX 1968, bedömdes olämplig som betesmark i 7 månader efter händelsen (Committee on Government Operations 1969). Sarin är relativt lättflyktigt och avdunstar sommartid efter ungefär en timme om det spritts på markytan (Karlsson et al 1988). Om det däremot sprids som sammanhängande vätska (t.ex. läckage från lagerbehållare) sker avdunstning betydligt långsammare och kvarliggningstiden blir längre. Då sarin och soman bryts ned eller avdunstar relativt snabbt blir effekten av transport och omlagring begränsad. Vid regn kan dock dessa ämnen lösa sig och tränga ned i marken. Detta gäller dock i än större utsträckning för VX som har en ungefärlig kvarliggningstid på 10 dagar och som är ganska löslig i vatten. VX har således en kvarliggningstid (persistens) som möjliggör infiltration i mark i samband med regn. Markinfiltration sker förhållandevis långsamt eftersom processer som adsorption, främst till organiskt material som humus, har en fördröjande verkan – även om adsorptionskapaciteten är låg. För VX är adsorptionskoefficienten till organiskt kol (K_{oc}) ca 100 µg adsorberad substans/g organiskt kol/µg/ml lösning (Lyman et al 1990, Howard 1997). Systematiska undersökningar på betydelsen av markens och jordens egenskaper för persistens och transporten av VX och relaterade ämnen inom och från belagt område saknas i dag.

Arsenikhaltiga stridsmedel, som exempelvis lewisite⁵⁵, bryts ned snabbt via hydrolys till saltsyra och giftiga arsenikföreningar. Sannolikt fastläggs huvuddelen av arsenikföreningarna i den översta halvmetern jord (Berglind 1994). Adsorption torde till övervägande del ske till humus samt järn- och aluminiumoxider i B-horisonten (rostjorden). Arsenik konkurrerar med fosfor om bindningsplatser på markpartiklar vilket betyder att höga fosfathalter i markvattnet ökar tillgänglighet och läckage av oorganisk arsenik. Teoretiskt skulle en arsenikkontamination av grundvatten kunna ske i mark som är fattig på finmaterial och humus, har tunn rostjord samt hög fosfatbelastning.

Eftersom VX ligger kvar på mark och markvegetation i ungefär 10 dagar ökar riskerna för vidare spridning betydligt. Fältförsök med simliämnen avseende VX på kall (0-10°C) och fuktig sandjord visar att transport till djupare marknivåer förmodligen har stor betydelse för ”avgiftning” av markytan (Fang et al 1998). Hur VX bryts ned eller omvandlas efter nedträngning i marken är oklart. Den adsorptivt bundna andelen kan till viss del

⁵³ Sarin: Isopropyl-metylfosfonofluoridat

⁵⁴ Soman: 1,2,2-trimetylprpyl metylfosfonofluoridat

⁵⁵ Lewisit: Klorovinyl-dikloroarsin

immobiliseras vilket betyder att den finns kvar trots att markmiljön återgått till det normala. Detta VX undanhålls kemisk och biologisk nedbrytning (Lichtenstein et al 1997). Fuhremann & Lichtenstein (1978) har visat att immobiliserade residualer av pesticider kan mobiliseras genom upptag av viss vegetation och vissa organismer. I exemplet från Karlsson et al (1998) visas att det finns en god potential för fastläggning av VX i markens organiska material (ca 12 g/m²). Då adsorption är en jämviktsreaktion kommer det dock alltid att finnas kvar en löst del VX tillgänglig för vidare transport.

Löst VX som inte reagerat med omgivande markmaterial transporteras sannolikt på motsvarande sätt som ”vattenpartiklar” (d.v.s. uppträder som ett bra spårämne, t.ex. ¹⁸O). Beräkningar ger vid handen att löst VX skulle nå ned till rotzonen (ca 50 cm djup) ett dygn efter utspridning under antagande om 50 mm påföljande regn. Om grundvattnet befinner sig på tre meters djup tar det ett år för VX att nå dit (Karlsson et al 1998). Under de betingelser som råder i djupare markvatten och grundvatten sker nedbrytning mycket långsamt. Exempelvis har ingen nedbrytning av VX noterats i grundvatten (4°C) efter 30 dagar (Crenshaw et al. 1994). Även om nedbrytning inträffar kan den leda till bildandet av en stabil produkt EA2192⁵⁶ som bildas vid neutralt och svagt alkiskt pH, med nära på lika stor giftighet (Trapp 1985, Szafranec et al 1990). Ekotoxikologiska data för EA2192 saknas i dagsläget (Munro et al. 1999). Adsorptionen av EA2192 till humus är relativt låg (log K_{oc}=1,90; Small 1984).

En annan nedbrytningsprodukt från VX är EA4196⁵⁷ vars egenskaper i mark och i vatten, så väl som toxicitet, är okända (Munro et al 1999). Slutprodukten från VX-nedbrytning är den stabila MPA⁵⁸. Vid Dugway Proving Ground, USA, har MPA påträffats i mark 10 år efter kontamination. MPA har låg giftighet för däggdjur och vattenorganismer. Mellansteget EMPA⁵⁹ har okänd giftighet men tros likna IMPA⁶⁰ och därigenom vara lågttoxisk för däggdjur (Munro et al 1999). Uppgifter som belyser risken för exponering över tiden för kemiska stridsmedel bundet till jordpartiklar eller via dricksvatten har inte återfunnits i litteraturen.

Klart är att långsiktiga risker för exponering av människor och djur för kemiska stridsmedel som vistas i ett belagt område beror av föreningarnas persistens, markens egenskaper, klimat etc. men också av hur marken brukas. Det övre skiktet av skogsmark i Sverige består till stor del av organiskt material som i huvudsak utgörs av humus som har sur karaktär. För explosivämnen har denna fraktion stor betydelse för fastläggning och transport i mark. Explosivämnet TNT adsorberas snabbt till humusfraktionen i jord för att sedan desorbera långsamt (Eriksson, 2003). I litteraturen har inga uppgifter påträffats som beskriver interaktionen mellan VX eller andra kemiska stridsmedel och humus. Fastläggningen och nedbrytningen av kemiska stridsmedel i detta skikt har betydelse för spridning, transport, exponering, biotillgänglighet etc. och därigenom risken för framtida uppkomst av toxiska effekter på djur och människor som vistas i ett sådant område.

⁵⁶ EA2192: S-(2-diisopropylaminoethyl-metyl-fofonotioat)

⁵⁷ EA4196: Bis(2-diisopropylaminoetyl)disulfid

⁵⁸ MPA: Metyl-fosfonsyra

⁵⁹ EMPA Etyl-metylfosfonsyra

⁶⁰ IMPA: Isopropyl-metylfosfonsyra

4.2.2 Sjöar och vattendrag

Påverkan från kemiska stridsmedel i vattendrag kan i huvudsak tänkas ske genom direkt beläggning, via utloppet från en kontaminerad sjö eller via mättad ytavrinning från omgivande mark vid exempelvis kraftiga regn. Kemiska stridsmedel som infiltrerats i marken och därefter runnit ut i rinnande vatten kan eventuellt ge effekter som dock bör bli begränsade. Eftersom många vattendrag är ekologiskt viktiga, t.ex. reproduktionsområden för fisk, kan dock effekterna bli allvarliga även vid mycket låga nivåer och trots utspädningseffekten. De faktorer förutom temperatur och pH som är av stor betydelse för spridning och persistens i vatten är sannolikt mängden oorganiska och organiska partiklar och halten humus (Eriksson 2003).

Med utgångspunkt från föregående kapitel (4.2.1) framgår att främst lewisit och VX kan förväntas ge de mest omfattande och bestående effekterna på sjöar och vattendrag. Substanserna har ett lågt ångtryck och högre densitet än vatten varför de primärt antas påverka och bli kvar i det vattendrag som primärt förorenats (Crenshaw et al 1996, Munro et al 1999). Mikrobiell och kemisk nedbrytning av dessa ämnen följer samma beteende som i mark. Lewisit är relativt svårslöslig i vatten (0,5 g/l, Kopecz et al 1996) och har hög densitet (1,89 g/cm³, Santesson 1984) varför snabb sedimentation kommer att ske (ca 10 cm/s, SRIJ 1961). Dessa egenskaper medför att merparten av stridsmedlet passerar en sjös språngskikt (i förekommande fall) och hamnar på botten. Den mindre del som löses bryts så småningom ned genom hydrolys till giftiga arsenikföreningar. Både olöst lewisit och nedbrytningsprodukter kommer att finnas kvar på botten under lång tid. Arsenikföreningarna kommer att utgöra en exponeringsrisk för främst fiskar och andra vattenlevande djur.

VX uppvisar fullständig upplösning i vatten kallare än 9,5°C men även vid högre temperaturer är lösligheten betydande. Vid sommartid med ca 15-20°C vattentemperatur och om VX-dropparna är större kan viss del hinna sjunka ned till språngskikt eller botten för att därefter upplösas och omblandas. Densiteten på VX är 1,01 g/cm³ (Santesson 1984), d.v.s. något högre än för vatten. Den lösta delen kommer att brytas ned mycket långsamt och ungefär en tredjedel av nedbrytningsprodukterna blir likaledes giftiga men betydligt stabilare (EA2192).

Vad beträffar miljöeffekter av VX i ytvatten kan vi med ledning av vissa antaganden och teoretiska beräkningar dra slutsatsen att en avsiktlig spridning skulle ge betydande långtidseffekter bl.a. genom uppkomsten av giftiga nedbrytningsprodukter. Om vi tillämpar de amerikanska gränsvärdena för exponering av barn, 0,14 - 0,29 µg/l, för VX/nervgaser och för EA2192 (Watson et al 1992), kan en sjö slås ut som dricksvattenreservoar i skalan 1- 10 tals år vid ett typiskt militärt C-angrepp (Karlsson et al 1998).

4.3 Exponering och biotillgänglighet

I föregående avsnitt beskrevs några av förutsättningarna för omvandling, transport och spridning av främst kemiska stridsmedel i mark och vatten. Viktiga faktorer som bestämmer varaktigheten av risken för exponeringen var bl.a. substansens inneboende egenskaper och jordens resp. vattnets pH, temperatur samt innehåll av organiskt kol. Så länge inget djur eller någon människa vistas i ett belagt/förorenat område föreligger ingen risk för exponering och upptag eftersom ämnet inte är biotillgängligt. Detsamma gäller om ämnet är bundet i jorden och marken är bevuxen etc. Så snart området (mark och sjöbotten)

börjar exploateras/brukas finns risk för exponering av människor och djur för partiklar som kan vara förorenade med giftiga kemiska ämnen.

Undersökningar som belyser betydelsen av suspenderade partiklar, kolloidalt och löst organiskt kol för förekomstformen, nedbrytningen och spridningen av exempelvis VX och dess nedbrytningsprodukter i vattenmassan har inte återfunnits i litteraturen. Kunskap om interaktionen mellan denna fraktion och kemiska stridsmedel i sjöar och vattendrag utgör en viktig del i den tidsrelaterade miljö- och hälsoriskbedömningen av belagda områden. Sjöarnas botten består av sedimenterat organiskt och oorganiskt material och miljön är oftast reducerande och fattig på syre. Sedimentet kan även utgöra en reservoar för dessa ämnen.

Djurs och växters förmåga att ta upp föroreningar ur mark och vatten beror av om ämnet kan tas upp av organismen (biotillgänglighet). Endera tas inte ämnet upp av organismen p.g.a. biologiska orsaker eller är ämnet mer eller mindre oåtkomligt. Generellt sett är ämnen lösta i vatten lättillgängliga, medan ämnen som sitter hårt adsorberade på ytor eller till stora molekyler inte lättillgängliga för upptag av t.ex. markpartiklar, växtrötter eller fiskarnas gälar. Att kunna uppskatta biotillgängligheten är en nyckelfråga vid riskbedömning av substanser och föroreningar som finns i sediment, jord, gröda m.m. En annan viktig fråga är att biotillgängligheten för t.ex. ett specifikt ämne i jorden är olika för olika organismer och att den kan förändras i samband med förändringar i miljön. En toxisk substans biotillgänglighet bestämmer om dess förekomst skall utgöra ett omedelbart eller långsiktigt hot och därmed orsaka en oönskad effekt på ett biologiskt system eller inte.

Nedan ges en kort beskrivning av omgivningsfaktorernas betydelse för biotillgängligheten av organiska ämnen, däribland kemiska stridsmedel. Betydande kunskapsluckor när det gäller interaktionen mellan VX och partiklar finns särskilt angående betydelsen av åldring i jord. Kännedomen om upptag av organiska fosforföreningar i växter som brödsäd, grönsaker, frukt och oljeväxter är sparsam generellt och mycket påtaglig när det gäller kemiska stridsmedel. Emellertid är exponeringen av VX via grundvatten svårare att beräkna särskilt beroende på tidsaspekten.

4.3.1 Exponering via gas

Biotillgänglighet av en gas kan uttryckas som erforderlig tid för exponering för en substans i en given situation/miljö för att en viss effekt ska uppkomma i ett biologiskt system. Ett sätt att uttrycka exponering för en gas är $\text{mg} \times \text{min}/\text{m}^3$. Härigenom visas betydelsen av hur mottagaren exponeras och att substansens egenskaper kan påverka resultatet. Tabell 8 illustrerar att biotillgängligheten av VX i gasfas beror av exponeringsvägen. Vid exponering av enbart hud för en given gaskoncentration krävs fem gånger så lång tid för att ge svåra skador på människa i jämförelse med exponering via inhalation under samma förhållanden.

Tabell 8. Beräknad letal tid \times effektkoncentration vid exponering av människa för tabun, sarin, soman och VX i gasfas (Subcommittee 1997)

Index Beräknat	Exponeringsväg, gas		Substans
	Perkutant	Inhalation	
$\text{LCt}_{50} \text{ mg min}/\text{m}^3$	20000 (15000*)	135	Tabun
	15000 (10000*)	70	Sarin
	-(2500*)	70	Soman
	-(150*)	30	VX

*Nytt beräknat värde för letal effekt för 50% av exponerade

Det systemiska LD₅₀-värdet för en person som väger 70 kg är beräknat till 6,5 mg. Vid av upptag av VX vid exponering av båda händerna (0,32 m²) för 4 µg/cm², beräknas den systemiska dosen blir den 4,16 mg efter 8 timmar, vilket sannolikt ger svåra skador (Wester et al 2000). Denna exponeringsväg bedöms inte vara relevant när det gäller ämnen som är adsorberade till partiklar eller är i vattenlösning. Exponering för gasfasen av ämnen med lågt ångtryck som VX är relevant i anslutning till spridningstillfälle eller i situationer där belagda ytor av mark är under stark uppvärmning av solen.

4.3.2 Exponering via partiklar

Litteratur om organofosfater beteende i jord är sparsam. Även biotiska och abiotiska faktorer som påverkar adsorption, desorption samt faktorer som påverkar biotillgänglighet och nedbrytning av organofosforföreningar är sporadiskt förekommande i öppen litteratur. Försöken på bl.a. paration indikerar dock att biotillgängligheten för föreningen minskar med tiden i jord. Detta har visats för senapsgas och VX där toxiciteten sjunker med ökande halt mull men även med lermineral i jorden. En viktig fråga är om resultaten från försöken på insekter vid en riskbedömning kan överföras på högre djur och människor med hänvisning till minskad biotillgänglighet av substansen i jord. Vidare, i vilken utsträckning kan jordart och jordmån ha betydelse för adsorption/desorption av kemiska stridsmedel, och därmed grad av biotillgänglighet och spridningsbenägenhet. Eftersom biotillgängligheten är den mest betydelsefulla faktorn vid bedömningen av hur länge ett område ska betraktas som farligt att vistas i, bruka eller använda som exempelvis en lekpark, behövs ingående kunskap om VX och andra relaterade ämnens beteende i naturen. För att besvara dessa frågor behöver jordartens och jordmånens betydelse för biotillgänglighet och spridning av kemiska stridsmedel i jord undersökas. Relationen mellan detekterbarhet i olika jordar med portabla instrument, innehåll i jord och risk för exponering är en annan frågeställning.

Försöken på föreningar med mycket låg vattenlöslighet som benzo(a)pyren och DDT visar att absorption genom hud från människa minskar med en faktor 10 till 20 om ämnet är blandat med jord med lera och organiskt material. Detta är en viktig iakttagelse inför riskbedömning vid vistelse i industriområden med förorenade jordar.

4.3.2.1 Interaktion partikel - agens

Den biologiska tillgängligheten av en kemikalie bestäms av dess förekomstform i miljön. Fördelningen av ett ämne i miljön bestäms av dess fysikaliska egenskaper, då främst vattenlöslighet (Walker et al 2001). Generellt sett förekommer partikelbundna organiska lika väl som oorganiska ämnen i tre faser: mobil (löst i vatten), mobiliserbar från partikeln/komplexet respektive ej mobiliserbar från partikeln. Den mobila andelen anses vara biologiskt tillgänglig och står i jämvikt med den andel som är mobiliserbar från partikeln. Den hårt bundna fraktionen är inte tillgänglig biologiskt sett (Hämmann et al 1998).

Jordar med hög andel organiskt material och/eller hög andel lermineral binder bl.a. organiska ämnen betydligt hårdare än jordar med låg andel organiskt material och lermineral (Eriksson 2003). En orsak till att lera och organiskt material har stor bindningskapacitet är att den totala ytan är större per viktsenhet och andelen mikrohållrum per partikel (< 10 nm i diameter) som substanserna kan adsorbera till. Kemikalier som är bundna till organiskt material och lermineral är i hög grad icke biotillgängligt, och bryts därför inte ner mikrobiologiskt så länge de sitter fast. Är dessutom substansen gömd i ett hållrum är den i högre grad oåtkomlig för mikrobiell nedbrytning. Nedbrytningen i mark och vatten är beroende av om partiklarna fungerar som katalysatorer för eller som skydd

mot hydrolys och andra reaktioner. Ämnen som är hårt bundna till partiklar kan således betraktas som immobiliserade av kemikalier (Alexander 1997). I vattenmiljön adsorberas organiska ämnen till de organiska och oorganiska partiklar som finns i den fria vattenmassan eller i sedimentet. Kemikaliernas vidare öde (persistens, omvandling m m) är beroende av partiklarnas egenskaper och vattnets pH, syrehalt, karbonathalt m.m. men också av vattnets turbulens. Kemikaliens biotillgänglighet i exempelvis sediment bestäms till stor del av dess innehåll av lera och organiskt material (Walker et al 2001).

4.3.2.2 Exponering via jordpartiklar

Spridning av kemiska stridsmedel över mark kan liknas vid spridning av bekämpningsmedel på en åker. För de flesta bekämpningsmedel är det känt att doseringen (mg substans/m²) för att nå avsedd effekt bestäms av jordmånen. Ler- och mullrik jord kräver högre dos än sandig och mullfattig jord. Kort efter spridningen är det mesta av substansen biotillgänglig. Genom s.k. åldring blir substansen allt mer adsorberad av jordpartiklarna varpå tillgängligheten för bl.a. mikroorganismer, växter och djur sjunker (Walker et al 2001). Laboriestudier har visat att diazinon (en organofosfat) binder till jord (0,7 % organiskt material och 15 % lera) med upp till 40 % vid jämvikt mellan vattenlösning och jord efter 24 timmar. Den starka adsorptionen till jorden anses bero på dess låga löslighet i vatten (Nemeth-Konda et al 2002). Den fraktion i jorden som fosforföreningen binder till är humus, främst genom vätebindning (Gevao et al 2000). Åldringens betydelse i jord kan illustreras med nedbrytningen av paration i mark. Koncentrationen paration i jorden tiden nära (< 1 år) efter spridningstillfället minskar snabbt, från ca 500 till 5 ppm, främst genom biologisk nedbrytning. Därefter sker nedbrytningen betydligt långsammare, från 5 till 1 ppm inom 5 år. Den reducerade nedbrytningshastigheten tillskrivs reducerad åtkomlighet för mikroorganismer. (Alexander 1997) Jordartens betydelse för biotillgängligheten av kemiska stridsmedel hos insekter har undersökts av Checkai et al (2000). Biotillgängligheten uttryckt som letal koncentration i jord av senapsgas undersöktes på en jordlevande insekt, *Folsomia candida* (Collembola, hoppstjärt). Djur exponerades för gasen inblandad i den jord de lever. I s.k. standardjord med 10 % organiskt material (OM) var LOEC⁶¹ för senapsgas vid 6,97 mg/kg jord för juveniler. I jord med 4,2 och 2 % OM var LOEC för juveniler 6,25 resp. 1,9 mg/kg jord (Philips et al 2002). I motsvarande undersökning av toxiciteten hos VX noterades effekt på överlevnaden hos Collembola vid halterna 0,25 och 3 mg/kg jord. Även här noterades den lägsta toxiciteten i jord med den högre halten organiskt kol. Juveniler var känsligare än adulter oberoende av vilken jord som undersökningen gjordes i (Chekai et al 2000). Åldringens och jordmånens betydelse för dioxins biotillgänglighet har också studerats. Marsvin gavs via gavage (sondmatning) åldrad dioxinförorenad jord av olika typ, nämligen Newark soil (NS) och Time Beach soil (TBS) samt nypreparerad dioxinförorenad Newark soil. Upptaget av dioxin var högst ur den nypreparerade jorden. Mellan de åldrade jordarna var skillnaden i biotillgänglighet ca 20 gånger, 29,5 % ur TBS och ur NS 1,6 %. Åldringens betydelse för biotillgängligheten av dioxin i jord är dock inte oemotsagd. Andra försök har visat att åldringen inte har någon betydelse för biotillgängligheten vid inhalation av dioxinförorenade jordpartiklar. Möjligen kan valet av artificiell jord ha inverkat på resultatet (Alexander 1997).

4.3.3 Överföring via gröda

Betydelsen av interaktionen mellan substratet och substans för exponering belyses till en del av den olycka som inträffade i Utah 1969. I samband med ett utspridningsförsök med

⁶¹ LOEC = Lowest Observed Effect Level

VX på en forskningsbas, Dugway Proving Ground, Utah, USA, spreds ca 9 kg av substansen utanför försöksområdet. I vindriktningen upp till 80 km från försöksområdet kontaminerades betesmarker för boskap med VX. Ett stort antal får förgiftades, nära 4500 dog, dagarna efter utspridningen. Enbart betande får blev sjuka eller dog. Exponeringen för VX var således genom det gräs de åt. Diande lamm och djur som fick tidigare skördad alfalfa påverkades inte. Inga andra husdjur dog, inte heller människor påverkades starkt i samband med exponeringen för utsläppet. Hästar och kor uppvisade reducerad kolinesterasaktivitet i blodet, vilket indikerar ett visst upptag av VX (van Kampen et al 1969, Committee on Government Operations 1969). Växter från områdena som drabbades av nedfall skördades 17 dagar senare och gavs till får. Alla djur som fick detta foder uppvisade reducerad kolinesterasaktivitet i blod samt kliniska symtom på förgiftning av organiska fosforföreningar. I det gräs som skördades senare under året (juni och augusti) visade sig inte vara giftigt för får (van Kampen et al 1969). Inget i rapporten sägs om jordprov togs och analyserades med avseende på VX eller dess metaboliter. Uppenbart är att djur som ätit VX-kontaminerat gräs drabbats mycket hårt, medan djur som av olika anledningar inte ätit eller endast ätit mindre mängder inte uppvisade några toxiska symtom. Diande lamm äter uppenbarligen inte gräs i någon större mängd men vistades i samma område där deras mödrar åt förgiftat gräs. VX som kontaminerat gräset har förmodligen inte varit tillgängligt för lammen vare sig via gräset eller via den mjölk som de diat. Endera kan inte VX penetrera genom klövar eller så har VX immobiliserats genom att lösa sig i gräsets vaxskikt. Klart är att VX inte kan föras vidare från tacka till lamm via mjölken. Organiska fosforföreningar kan tas upp av växternas rötter och föras upp till dess gröna delar. Ett exempel är Phorate som adsorberas av växters rötter och därigenom göra hela växten giftig. Odlingar som behandlats med Phorate får därför av säkerhetsskäl inte, beroende på grödan, skördas förrän 30 till 90 dagar passerat efter behandling. Att dra slutsatsen att alla organiska fosforföreningar är biotillgängliga via växternas rötter utifrån detta enda exempel är att gå för långt. Frågan som dock måste besvaras är om VX är biotillgängligt för växter, under vilka förutsättningar, vilka växter, hur och var anrikas det och var tar det VX vägen som vid nedfall fäster på bladen?

4.3.4 Överföring via vattenfas

I akvatisk miljö är kemiska ämnen som bekämpningsmedel dels bundet till suspenderade partiklar dels löst i den fria vattenmassan. Vid undersökningar av toxiciteten hos dräneringsvatten kan den lägsta totala effektkoncentrationen av en substans ligga betydligt över den koncentration som i laborietester på samma substans konstaterats ge en motsvarande effekt. Exempelvis hittades högre totalhalt av diazinon (organisk fosforförening, insekticid) i ett prov tagit nära ett dräneringsutlopp än ämnets 96 timmars NOEC⁶² för en vattenmärla (kräftdjur). Detsamma gällde för DDT och andra organiska klorföreningar (Hunt et al 1999). Således kan ett vattenprov som renats från partiklar ha lägre halt toxisk substans än vad en totalanalys skulle visa. Djur som dricker sådant vatten och vattenlevande djur som lever av partiklar i vattnet blir med andra ord exponerade för både partikelbunden och löst substans.

Ödet och beteendet hos bekämpningsmedel i vattenmiljön är till en del känt och vissa slutsatser om VX öde i vattenmiljön kan dras ur denna baskunskap. För att göra bättre tidsrelaterade riskbedömningar som tar hänsyn till egenskaperna hos VX, behövs mer ingående undersökningar av VX beteende i naturmiljön. Vilken inverkan har inbindningen av VX och dess nedbrytningsprodukter i sediment på den kemiska och biologiska

⁶² NOEC = No Observed Effect Concentration

omvandlingen av dessa, under de olika miljöbetingelser som styrs av årstidsmässiga skiftningar i temperatur, pH och syrehalt? Mot bakgrund av att VX har sådana egenskaper att den kan infiltrera jord och förorena grundvatten och att föreningen är stabil under dessa förhållanden bör främst modelleringar som beskriver det rumsliga och tidsmässiga ödet under standardiserade förhållanden. Resultaten från sådana studier kan därefter ligga till grund för undersökningar i på laboratorium och i fält. Försök vid FOI NBC-Skydd har visat att andelen extraherbar VX ur sand med 20 % lera inblandat, beror av förvaringstemperatur och extraktionstemperatur. Lerig jord med högt pH, förvaringstemperatur på ca 20°C, åldring i jorden upp till 30 dagar och låg extraktionstemperatur ger ett lågt extraktionsutbyte av VX. Resultaten antyder att den låga lösligheten hos VX vid hög temperatur gynnar adsorption till lera och missgynnar nedbrytning. Exemplet med VX illustrerar kemiska och fysikaliska faktorerens betydelse för förekomstformen och överlevnaden av en substans i mark. (Lundqvist 2003).

Betydelsen av vattenomsättning, vattenkemi, omblandning etc. på koncentration och nedbrytning av VX. Koncentrationen VX i sjövattnet efter 1 till 3 månader beräknades ligga mellan 0,2 till 0,4 mg/l efter en initial beläggning av 1 g/m². Kvarliggningstiden i vattenmiljön uppskattades till 1,5 - 3 år beroende på vattenkemin. Vatten från en sådan sjö kommer således att vara hälsovådligt vid konsumtion (t.ex. drickvattenreservoar) för människor under lång tid efter en beläggning. Högsta acceptabla nivå för nervgaser i dricksvatten är 0,14 - 0,29 µg/l (Watson et al 1992). Vattenlevande djur såsom fisk, insekter och kräftdjur (LC₅₀ < 10µg/l) kommer inte att kunna kolonisera ett sådant vatten inom en tidsperiod av ett till flera år (Munro et al 1999). Vattendrag som härrör från en förgiftad sjö kommer även det att vara hälsoskadligt till vådligt, lång tid efter det att sjön uppströms förgiftats med VX. Adsorptionen till partiklar och inbindning i sediment av VX samt bildande och persistens hos nedbrytningsprodukten, EA2192 (Munro et al 1999) är faktorer som kan bidra till fördröjd avgiftning av ett kontaminerat område.

4.4 Förslag till fortsatta studier för C

I Karlsson et al (1998) identifieras kunskapsluckor rörande C-stridmedels spridning och mikrobiella nedbrytning i mark och grundvatten samt vilka egenskaper hos jorden som är hastighetsbestämmande. Därutöver kan följande frågor kan ställas:

- När kan människor utan risk för exponering vistas i ett VX-belagt gräsbevuxet område?
- Hur påverkas nedbrytbarheten och biotillgängligheten av VX och nedbrytningsprodukten EA2192 i mark och vatten av abiotiska faktorer såsom pH, temperatur, jordmån och av biotiska faktorer som mikrobiell aktivitet?
- Hur lång tid behöver gå innan marken kan kultiveras utan risk för exponering och förgiftning av människor och djur?
- Kan VX ackumuleras i växters vegetativa delar (rot, stam och blad) och därigenom förgifta djur och människor som äter gröda respektive grönsaker?
- I vilken utsträckning metaboliseras VX av växter?
- Kan VX i likhet med Phorate tas upp av växande gröda och grönsaker?
- Kan VX som tagits upp av en oljeväxt ansamlas i de oljerika fröna och därigenom utgöra en förgiftningsrisk?

De kunskapsluckor som Karlsson et al (1998) tar upp beträffande C-stridmedels öde i vatten belyser problem som i denna litteraturgenomgång inte kunnat besvaras. Således är dessa frågeställningar fortfarande aktuella. I rapportens miljökonsekvensanalys framkom följande:

- Kontamination av vattendrag genom ytavrinning
- Kontamination av grundvatten
- Konsekvenser för vattentäcker.

Till dessa punkter skulle kunna tillfogas följande frågeställningar:

- Hur betar sig VX/nedbrytningsprodukter i den mättade respektive mättade (grundvatten) zonen?
- Vilken är spridningsrisken?

5. Modellbeskrivning av transport i mark och vatten

5.1 Generella ansatser

Transport av NBC-ämnen i mark kan generellt beskrivas med differentialekvationer där förändringen över tid i en punkt (beskrivs av term *i*), beror av advektion (*ii*), diffusion (*iii*) och masskrafter som gravitation och dessutom attraktionskrafter (*iv*). Tillkommer gör beskrivningar av tillförsel och borttagande från systemet (*v*).

$$\underbrace{\frac{\partial \phi}{\partial t}}_i + \underbrace{\frac{d(\bar{u}\phi)}{dx}}_{ii} = \underbrace{\frac{d}{dx}}_{iii} \left(\underbrace{v_{eff}}_{iv} \underbrace{\frac{d(\phi)}{dx}}_v \right) + S + M \quad (1)$$

Det kan till exempel vara adsorption, utfällning eller omvandling via kemisk eller biokemisk inverkan. Transporthastigheten \bar{u} beräknas ofta med hjälp av Darcys lag.

$$\bar{u} = \frac{K_{xx}}{\theta} \frac{\partial h}{\partial x} \quad (2)$$

där K_{xx} är hydraulisk konduktivitet och $\partial h/\partial x$ är tryckfallet per längdenhet. Porositeten i marken betecknas med θ . Darcys lag är empirisk och tillämplig i makroskala, vilket är av fundamental betydelse. En mängd partiklar och hålrum ersätts av ett representativt kontinuum eller en representativ elementärvoly. Det finns en undre och en övre gräns inom vilka ett kontinuum är applicerbart och makroskopiska parametrar är definierbara. Mätinstrument ger också en skalning av verkligheten till en minsta möjlig mätvolym, vilket poängteras i Ghanem (1998). Denna ansats med en representativ volym (REV) är en förutsättning för att kunna diskretisera ekvationerna och lösa dem numeriskt. Ghanem framhåller att för flerfasflöden krävs det ett antal generaliseringar för att bibehålla någon grad av rättfärdigande för att använda Darcys lag.

Den effektiva dispersiviteten v_{eff} ges egenskaper så att den beskriver dispersion och diffusion för respektive ämne och miljö. Kroppskrafter är materialberoende, densitet, viskositet och andra egenskaper som är unika för respektive ämne kan ändå ges samma matematiska form. Tillförsel och bortförsl, eventuellt omvandling till andra ämnen kan ses som källtermer eller sänktermer, alla dessa unika egenskaper representeras i term (*iv*) i ekvation (1).

Ämnen som gärna fastnar i sin omgivning på grund av laddning eller andra orsaker kan modelleras genom att införa en retardationsparameter i ekvation (1).

Adsorption till markmatrisen kan modelleras genom en jämviktsansats där andelen adsorberad fas är beroende av koncentrationen i löst fas eller gasfas. En linjär ansats ger

$$\bar{C} = K_d C \quad (3)$$

där K_d agerar som adsorptionskoefficient. Genom att till ekvation (1) addera en term (*iv*) som överför substans till sorberad fas

$$S = -\rho_b \frac{\partial \bar{C}}{\partial t} \quad (4)$$

kan man skriva om ekvation (1) så att term (i) multipliceras med R . Det ger då en retarderande effekt på transportmodellen. Icke-linjära och icke stationära samband modelleras med separata överföringsekvationer.

För en utökad beskrivning av generella ekvationer för marktransportberäkningar hänvisas till Larsson (2003).

En del mikroorganismer har förmåga till kemotaxi och kan röra sig i fördelaktig riktning i en gradient av en substans. Denna egenskap kan vara av betydelse vid små advektionshastigheter och bör även den modelleras, och representeras av R i ekvation (1).

För att tydliggöra likheterna och även olikheterna kan termerna för beskrivning av transport av N, B och C- ämnen ställas upp i en gemensam tabell, se tabell 9, där unika egenskaper kan förklaras var för sig. Observera att jämförelsen endast syftar till att åskådliggöra skillnader och likheter mellan olika exempel av modeller för studie av N, B respektive C och inte syftar till att vara heltäckande.

Tabell 9. Generella termer för beskrivning av transport av N, B och C- ämnen.

X	N	B	C
i	$\frac{\partial \omega T_j}{\partial t}$ $\omega = \text{porositet vid mättat flöde}$	$\frac{\partial \theta \phi}{\partial t}$ $\theta = \text{fas-andel av volymen}$	$\frac{\partial \theta \phi}{\partial t}$ $\theta = \text{fas-andel av volymen}$
ii	$\nabla \cdot (\bar{u} \tilde{T}_j)$	$\nabla \cdot (\bar{u} \theta \phi)$	$\nabla \cdot (\bar{u} \theta \phi)$
iii	$-\nabla \cdot (\omega D_j \nabla \tilde{T}_j)$	$-\nabla \cdot (\tau \theta D \nabla \phi)$ $\tau = \text{Turtuositet?}$	$-\nabla \cdot (\tau \theta D \nabla \phi)$ $\tau = \text{Turtuositet?}$
iv	R_{diss}	$-R(c) \sum_1^N \delta(\bar{x} - \bar{x}_k)$ Mikrobiell förbrukning	Ex $R_a^b = \kappa_a^b \phi_b$ Jämviktsrelation
v	$R_s \frac{\partial \theta \phi}{\partial t}$ R_s är en retardationsfaktor	$-(\theta_k - \theta_g) H(\nabla c - \varepsilon)$ Kemotaxi	$R_s \frac{\partial \theta \phi}{\partial t}$ R_s är en retardationsfaktor

5.2 Översikt av modeller

5.2.1 Modeller för N

Transport av N modelleras ibland med någon typ av compartment-modell/låd-modell (Avila 2001), där förekomsten av ämnet ifråga förändras med överföringsfunktioner. Om inte den rumsliga koncentrationsfördelningen är viktig att beräkna, är den typen av beräkning tillräcklig om man antar vissa värden för transport givna av statistiska data. Fördelen med den beräkningsmodellen är att den specierar tillgängligheten vid de olika stegen i transportkedjan. Utbytet mellan olika lådor åskådliggörs väl genom en matris med lådorna placerade på diagonalen och utbytesprocesserna på de korsande raderna och

kolumnerna. Processerna löper medurs. Exemplet i figur 5 är hämtat från First Workshop (2003).

Transportmodeller som tar hänsyn till atmosfäriska och klimatologiska variationer såväl som biologiska effekter som rottillväxt och bioturbation har utvecklats av bland andra Hansen et al (1993).

Air	Irrigation Precipitation Aerosols	Inhalation	Irrigation Precipitation Aerosols					
Volatalisation	Vegetation	Ingestion	Exudation		Litter fall Senescence	Ingestion		
		Animals	Excretion		Fertilisation Excretion			
	Root uptake	Soil ingestion	Soil solution	Sorption Fixation Inclusion	Sorption Fixation	Uptake	Diffusion Advection Colloid transport Freezing	Diffusion Advection Colloid transport Freezing
Resuspension	Resuspension Rain splash	Soil ingestion	Desorption Dissolution	Soil inorganic		Ingestion Utilisation		
Resuspension	Resuspension Rain splash	Soil ingestion	Desorption		Soil organic	Ingestion Utilisation		
VOC release	Symbiotic transfer	Ingestion	Excretion		Death biofilm	Soil biota		
			Diffusion Advection Colloid transport				Deep soil	Diffusion Advection
			Diffusion Advection Colloid transport				Diffusion Advection Colloid transport	Parent material

Figur 5. Matrisrepresentation av migration av ^{36}Cl i ett markbundet ekosystem. Processer med blå färg anses vara de dominerande (First Workshop 2003).

5.2.2 Översikt av modeller för B

Advektion av B-partiklar sker i huvudsak med vattenflödet och den dispersiva transporten även den med vattenflödet. Beskrivning av B kan behöva ta hänsyn till geotaxi och kemotaxi beroende på vilken aktivitet objektet har. En modell av Stagnitti (1999) använder dessa parametrar. Tillväxt och avdödning beskrivs också med en modifierad Monod-modell. Vatteninnehåll och koncentration av tillväxtbegränsande substrat är viktiga parametrar. I litteraturen finns ett flertal modeller vilka kan vara värda att jämföra. Förutom Stagnitti (1999) och Tan (1995), finns även Matthew (2001) och Roberts (2002). I Roberts arbete studeras hur formen på bakterier påverkar rörelserna.

5.2.3 Översikt av modeller för C

C-ämnen som är aktuella för framtida studier kan vara vattenlösliga eller icke vattenlösliga. Är ämnet vattenlösligt kan advektion och dispersion modelleras med vattenfasen som medium. Om ämnet inte är vattenlösligt men ändå befinner sig i vätskefas kan en flerfasmodell vara lämplig. Ett exempel på en sådan modell har presenterats av Van Dijke

(2001), där fasernas inbördes rörelser bestäms av trycket i faserna. Dessa bestäms av ytspänningen mellan faserna. Ämnen lösliga i respektive fas transporteras av dessa.

För ämnen lösta i vatten finns ett stort antal modeller som i huvudsak skiljer sig åt med hur sorption och andra källtermer är utformade. Ett programpaket för grundvattenmodellering GMS (Groundwater Modeling System), innehåller beräkningsprogram för kemikalietransport. MT3D och RT3D är modeller som främst används i den mättade zonen men kan även brukas i den omättade zonen. Båda använder grundvattenmodellen MODFLOW för att bestämma vattenflödet. RT3D kan utvecklas med användarens egna tillägg för kopplade system med reaktiva ämnen, medan MT3D är en färdig modell där användaren endast behöver specificera de ingående parametrarna, (GMS dokumentation, se ref.).

I samarbete mellan FOI NBC-skydd och norska FFI (Forsvarets forskningsinstitut) utvecklas och valideras en modell för studie av explosivämnestransport syftande till att optimera sökande av landminor. Denna modell är en sammansmältning av två andra modeller. En av modellerna beskriver påverkan på marken från atmosfärsparametrar som vindhastighet, nederbörd och dessutom från växtlighet. Den modellen heter SiSPAT (Braud 2000). Den andra modellen är en 2D-modell som heter CHAIN2D och är en fri programvara som finns tillgänglig via U. S. Salinity Laboratory.⁶³ CHAIN2D bygger på etablerade relationer för transport av vatten och temperaturflöden. Transport av kemikalier är modellerad med ett flertal varianter för omvandling och retardation. Exempelvis finns en ”two-site sorption modell” implementerad (Yiacoumi & Rao 1996). Egenskaper för den omättade zonen är också inkluderade. Denna modellutveckling är i en verifikationsfas med utveckling av experimentuppställning och mätmetoder.

Transport av C-ämnen sker även i gasfas i den omättade zonen eftersom inte allt porutrymme fylls av vatten. Ovanstående modeller kan handha två faser men gastransport i den omättade zonen finns studerad separat, bland andra av Thorstenson et al (1989) och Webb et al (2003). Webb studerade diffusion vid 1 atmosfär och kunde visa ett behov av en korrektion till Ficks lag. Denna korrektion bygger på Knudsen-diffusion.

Kemikalietransport har modellerats av Webb et al (1998) och Phelan och Webb (1999). De har studerat transport av sprängämnen från minor i marken. Här har de använt DGM, (Dusty Gas Model). DGM bygger på Knudsen diffusion. Den transportmodell som Phelan och Webb bygger på, utvecklad av Jury et al (1983), har också använts av FOI NBC-SKYDD genom Nyholm (1998). Oeseburg et al (2001) har verifierat och vidareutvecklat den modellen.

Modeller som tar hänsyn till ett stort antal parametrar och modellerar dessa med separata transportekvationer är till exempel en modell av Holstad (2000) och en modell av Bear et al (1998).

5.2.4 Andra modeller än FVM

I grunden är ansatsen för lösningen av ekvation (1), en representativ volym (REV) som tolkas som att de ingående storheterna är ett kontinuum och därigenom kan Navier-Stokes ekvationer för vätskeströmning appliceras. Dessutom kan ekvationerna diskretiseras så att ekvationerna kan lösas numeriskt. Den vanligaste metoden för att lösa ekvationerna är

⁶³ www.ussl.ars.usda.gov/models/modelsmenu.htm

finita differens eller finita volymsmetoder, men det finns fler. Finita element metoden (FEM) är en sådan. FEMWATER som är en del av GMS använder FEM, (GMS dokumentation). Lattice Boltzmann metoden (LBM) är ytterligare en metod. LBM är för närvarande under stark utveckling och många forskare utvecklar metoder för att studera flerfasflöden med LBM. Fördelarna är enkelhet i implementation och en möjlighet att utveckla LBM till en bra metod för studier av flöden i komplexa geometrier, porösa medier och för att simulera suspensioner. Nackdelarna är att modellering av energitransport så långt inte har getts en tillfredställande lösning och att relationen mellan fasernas densitet inte får bli för stor av stabilitetsskäl (Házi 2002, Nourgaliev 2003).

5.2.5 Randvillkor

Ofta väljer modellbyggare att lägga den undre gränsen för modellområdet på ett sånt djup att det inte påverkar den process man vill studera. De vertikala ränderna kan ofta behandlas på samma sätt. Problemet är i huvudsak att beskriva flöden genom den övre randen, den rand som kopplar ihop markvolymen/vattenvolymen med atmosfären. Den modell som utvecklas i samarbete med FFI, löser problemet genom att koppla ihop en modell som statistiskt med hjälp av bland annat similaritetsteori, beskriver de atmosfäriska processerna ovan markytan. Samma procedur används av Reichman et al (2000), för de atmosfäriska processerna medan de använder Richards ekvation istället för Darcys ekvation för att modellera vattentransport. Både dessa exempel inkluderar dygnsvariation för värmeinstrålning. En parameter som i båda dessa fall handhas med enkla ansatser är det turbulenta utbytet med det marknära skiktet. Det skikt där den laminära regimen ersätts av den turbulenta. Den ansatsen spelar också stor roll för både deposition och resuspension. Effekten av variationer i gränsskiktet har observerats av Phelan och Webb (1999). Tjockleken på det gränsskikt mellan markytan och den turbulenta delen av det atmosfäriska gränsskiktet beror av vindhastighet och atmosfärisk stabilitet. Dessa parametrar finns införda i SiSPAT som används av Phelan och Webb men ingår även i den modell som utvecklas av FFI och FOI NBC-Skydd gemensamt. I modellen saknas en beskrivning av turbulens och därmed gränsskiktets tjocklek i växtzonen, alltså mellan träd, buskar och grässtrån. Den turbulenta strukturen i växtskiktet har studerats av bland andra Shen och Leclerc (1997), och Raupach et al (1986). Flöden genom gränsskiktet mellan marken och det atmosfäriska är de drivande krafterna för transportprocesserna under mark och det är därför av stor vikt att kunna ge en så god beskrivning av randvillkoren som möjligt. Växtskiktet har i sig stor betydelse som mottagare, reservoar och förmedlare av deponerat material. Bland andra har Geurtdeinum et al (1995), Makarov et al (1996) och Keymeulen et al (1995), studerat dessa processer. Stellan Winter och Edvard Karlsson (FOI NBC-skydd) utvecklar för närvarande modeller för deposition till mark med och utan växtskikt. Kunskap från denna utveckling kan nyttjas i implementeringen av randvillkor för denna studie.

5.3 Förslag till fortsatta studier av transportmodeller

Transportmodellering av NBC-ämnen kan nyttja modeller som redan finns utvecklade. De finns tillgängliga men inte för alla ämnen och inte för alla förhållanden. Med utgångspunkt i att modellerna ska kunna beskriva tillgängligheten för ett visst ämne, behöver modellerna inkludera tillräckligt stor del av de fysikaliska processer som ämnet ifråga utsätts för i en realistisk situation. Det gäller källtermer som deposition och avdunstning. Det gäller beskrivningen av den effektiva turbulensen, egenskaperna i transportmiljön, (jordtyp etc.). På samma sätt som N-modeller beskriver tillgängligheten i olika lådor/compartments, bör även modeller för C-ämnen innefatta en beskrivning av var det aktuella ämnet finns och tillgängligheten. Behovet ligger i att kombinera lämpliga delmodeller och verifiera dessa mot experimentella data där experimenten utformats för att ge bra värden ur såväl realistisk som modellteknisk synpunkt.

Den modell som utvecklas i samarbete med FFI verkar vara den modell som utvecklingsmässigt ligger bäst till för fortsatt arbete. Utvecklingsarbetet inom FOI NBC-skydd vad gäller deposition till mark och transport i mark inom andra projekt bör samordnas med utvecklingsbehovet inom detta projekt. Målet bör vara att de modeller som finns för olika delprocesser ska kombineras för att hantera processerna vid markytan.

Behov finns av att utveckla och att verifiera en utvecklad modell. Verifikationen kan ske med utgångspunkt i en definierad extern lokal, med egenskaper som efterliknas i en lysimeter, i vilken mätningar kan utföras. Mätningar bör helst ske med en orörd markprofil överförd till lysimeter. Spårämnesförsök med till exempel deuterium eller tritium kan därefter utföras. Försök med aktuella NBC-agens kan därefter vidtas.

6. Diskussion

Ödet för kemiska stridsmedel, radioaktiva nuklider och smittsamma mikroorganismer i miljön bestäms dels av respektive ämnes inneboende egenskaper dels av den yttre omgivningens egenskaper. Skador på miljön och på människa kan uppkomma om förutsättningar för exponering finns, att ämnet är biotillgängligt och att mottagaren är känslig för ämnet. Förstudiens avsikt har varit att identifiera kunskapsluckor som kan utgöra basen för kommande projekt. Fokus har vilat på biotillgängligheten och risker för exponering.

Studier på det radioaktiva nedfallet från de atmosfäriska kärnvapensprängningarna och Tjernobylyckan har visat på att fissionsprodukterna cesium (^{137}Cs) och strontium (^{90}Sr), men även transuraner som plutonium och americium, är förhållandevis orörliga och återfinns till stor del i de översta delarna i marken även lång tid efter nedfallet. Risken för exponering av dessa nuklider, som till största delen är intag via föda, via jordbruket beror därför på hur stort upptaget är i jordbruksgrödor och det betesgräs som mjölkkor och köttdjur äter. För skogsmark är den främsta exponeringsrisken via viltkött, bär och svamp. Upptag av radioaktiva nuklider i växter är olika för olika nuklider och skiljer sig mellan olika marktyper. Cesium har liknande kemiska egenskaper som kalium och det ekologiska kretsloppet för cesium kan till viss del beskrivas med kaliums kretslopp. Samma förhållande gäller för strontium som kemiskt kan liknas vid calcium. Transuranerna liknar inte något näringsämne och upptaget av dessa i växter är därför betydligt mindre än för cesium och strontium.

Mikroorganismers överlevnad i jord varierar stort mellan olika arter, och deras överlevnadsmöjligheter bör därför bedömas individuellt. Den initiala överlevnaden efter en utspridning av smittsamma mikroorganismer styrs främst av vilken utspridningsmetod som använts samt tåligheten hos aktuellt agens. Det kan generellt antas att de allra flesta mikroorganismer som introduceras i en ny miljö konkurreras ut och dör, då den befintliga organismfloran redan är anpassad till den rådande miljön och på så vis har ett försprång i konkurrensen om näring. Det finns dock ett antal mikroorganismer som har utvecklat en förmåga till anpassning och överlevnad genom en förmåga att utnyttja olika egenskaper beroende på rådande omständigheter. Till de viktigaste abiotiska (fysiska) faktorerna som påverkar överlevnaden är temperatur och fukthalt. Förutom de abiotiska faktorerna spelar en rad biotiska (biologiska) faktorer roll, exempelvis predation.

Idag vet vi att ett antal av de mikroorganismer som kan förknippas med biologisk krigföring finns naturligt förekommande i Sverige eller har goda förutsättningar för att kunna etablera sig. För att öka vår kunskap om vilka mekanismer som styr överlevnaden av olika biologiska stridsmedel, är det nödvändigt att ringa in den naturliga reservoaren för mikroorganismen i fråga. Utveckling av nya strategier för provtagning av biologiska stridsmedel i fält är också ett angeläget område för utveckling. Det är därför viktigt att en kunskapsuppbyggnad beträffande provtagning och B-stridsmedels överlevnad i miljön påbörjas.

Egenskaper hos kemiska ämnen som gynnar spridning i mark och vatten är lång kvarliggningstid, viss persistens och vattenlöslighet. Lång kvarliggningstid och persistens ökar riskerna för vidare spridning av ämnen som VX och lewisit samt bildade nedbrytningsprodukter från en fuktig markyta till lägre liggande jordlager och grundvatten.

Vid hydrolys av VX kan en vattenlös giftig produkt bildas, EA2192. EA2192 är även lättlöslig i mark och dess giftighet är nära ekvivalent med moderssubstanten. I sjöar och vattendrag utgör sedimenterad och adsorberad substans en depå vilken kan vara en källa för exponering av djurlivet under lång tid efter spridningstillfället. Adsorptionen av kemiska ämnen till partiklar som organiskt kol och lermineral reducerar hastigheten av både biologisk och kemisk nedbrytning samt påverkar biotillgängligheten för växter och djur. Förmågan hos den exponerade organismen att lossa substansen, t.ex. VX, från bindningsstället i en jordpartikel avgör hur allvarlig effekten blir vid exponering för förorenad jord.

I områden som belagts med svårflyktiga kemiska stridsmedel kan exponering av människor ske av ämnet som gas men också via jordpartiklar, föda och via förorenat vatten. Detta är betydelsefullt inför bedömningen av hur länge ett område som belagts med kemiskt stridsmedel skall betraktas som farligt för människor att beträda eller bruka som åker eller trädgårdsland. Kunskapen om vilka faktorer som är betydelsefulla för överföring av kemiska stridsmedel från omgivningen via födan till människor och djur är bristfällig. Växter kan ta upp den organiska fosforföreningen phorat via rötterna, men motsvarande uppgifter om VX saknas. Allvarliga och långvariga skador kan uppstå på dricksvattenreservoarer om sådana områden beläggs med kemiska stridsmedel. Vattnets kemiska egenskaper som pH och alkalinitet samt temperatur avgör nedbrytningshastigheten av VX och andra kemiska stridsmedel vilket är avgörande för hur länge en dricksvattenreservoar är okänlig som födoämne.

En litteratursökning av publicerade metoder för beräkning av transport i mark av NBC-ämnen, har genomförts. Tillgängligt, publicerat material från 1996 och framåt har studerats. Dominerande metod är att använda etablerade diffusionsekvationer i kopplade system med separata ekvationer för ingående storheter. Metoder som Lattice-Boltzman och andra partikelmodeller har inte använts i någon större grad. Där transport av ämnen kan betraktas som en kontinuerlig process passar diffusionsekvationerna bra.

Genom att fastställa de beroenden som gäller för N-, B- och C-ämnen för transport, omvandling och tillgänglighet kan så en grund skapas för att beräkna risker i samband med vistelse i miljö där dessa ämnen förekommer. Inom FOI NBC Skydd och i samarbete med andra organisationer utvecklas modeller som har möjlighet att inkorporera sådan ny kunskap och därigenom kunna prediktera risknivåer och bidra till säkrare tjänstgöring och markutnyttjande på platser utsatta för spridning av NBC-ämnen.

7. Förslag till nytt forskningsprojekt NBC

7.1 Målsättning

Målsättningen är att utöka och komplettera nuvarande kunskaper om NBC-ämnens uppträdande och öde i naturmiljön, i synnerhet för B- och C-agens. I nuläget bygger detta kunskapsområde nästan uteslutande på antaganden och extrapolerade resultat från laborieförsök utförda i rena och kontrollerade system. Förstudien och praktiska erfarenheter har dock visat att laborierresultat inte räcker till för att beskriva en komplex verklighet.

Med tanke på att Sverige i allt större omfattning deltar civilt och militärt i internationella operationer, torde den föreslagna kunskapsuppbyggnaden dels vara att betrakta som ett arbetsmiljömässigt krav för svensk personal, dels utgöra underlag för uppfyllande av internationella direktiv och förordningar.

7.2 Områdesöversikt

Avsiktig som oavsiktig spridning av ämnen, produkter och smittsamma organismer i samband med krigshändelser, sabotage eller katastrofer innebär stor risk för långsiktig exponering av människor och miljö med följder som på förhand är svåra att överblicka eller förutsäga. Den kvarstående förekomsten av substanserna i regionen för utsläppet beror av deras inneboende kemiska/fysikaliska egenskaper, d.v.s. flyktighet, stabilitet, löslighet i vatten och för mikroorganismer deras förmåga att kunna konkurrera i naturmiljö, m.m. Beroende på tillgängliga data vid ett utsläpp, kan faran för exponering rumsligt beräknas. Risken för att människor skall skadas beror av om vi vistas i området och exponeras och om substanserna eller mikroorganismerna är tillgängliga för upptag, med andra ord, biotillgänglig.

I förstudiens kapitel 2 till 5 påvisas kunskapsluckor för N, B och C samt modeller för transport av dessa stridsmedel i mark och vatten. Vidare har mer specifika förslag till frågeställningar lagts fram som skulle kunna ligga till grund för forskningsplaner. Nedan ges ett förslag till stomme för forskningsplan inom NBC i mark och vatten.

Forskningsplanen skall bygga på följande inriktningar, där förutsättningarna för stridsmedlens spridning, omvandling (överlevnad) och biotillgänglighet undersöks med identifierade kunskapsbehov som utgångspunkt:

- Grunddata
- Processkunskap om transport, sorption och nedbrytning
- Biotillgänglighet och effekt.

Interaktionen mellan abiotiska och biotiska faktorer för ämnens/agens (enskilda eller i blandningar) biologiska effekt kommer särskilt att studeras. Vid studier av stridsmedlens transport och omvandling i mark och vatten kommer i första hand enskilda komponenter att studeras. Kombinationseffekter har påvisats bland annat för adsorption och kan därför behöva studeras i ett senare skede.

7.3 Betydelse

På kort sikt skulle projektet vara kunskapsuppbyggande och kunskapsbevarande inom forskningsområdena N, B och C i mark och vatten. Det innebär att vi har möjlighet att hävda oss som efterfrågad samarbetspartner både nationellt och på den internationella arenan. För betydelsen på längre sikt kan följande föras fram. I samband med upprättande av grupperingsplatser, undsättnings/räddningsoperationer efter sabotage med NBC-stridsmedel mot militära anläggningar eller civilbefolkning eller efter andra katastrofer behövs kunskap om hälsorisker vid kortvarig och långvarig exponering för toxiska ämnen i mark och vatten. Förståelsen av NBC-stridsmedels, industrikemikaliers eller markföroreningars tidsmässiga och rumsliga öde i mark, på/i växter och i vatten kan bidra till snabbare bedömning av exponeringsrisker och ämnenas biotillgänglighet för svensk personal men också för civilbefolkningen. Det kan också innebära värdefull kunskap om lämpliga skyddsmetoder/motmedel vid risk för exponering. Forskningen rörande ödet för NBC-stridsmedel och deras förekomstform, omvandlingsprodukter i mark och vatten, fyller en betydelsefull kunskapslucka som rör risk för kontaminering av yt- och grundvatten samt spridning till vattentäkter i samband sabotage, olyckor, krigshandlingar eller andra katastrofer.

7.4 Fältstudie – försöksområde

I scenarieform skulle spridningsförutsättningar kunnat utredas med utgångspunkt från ett område i Umeås närhet. I området finns natur som dels exemplifierar terrester miljö, dels akvatisk miljö. De typämnen som skulle komma behandlas är en nervgas (VX) som representerar kemiska stridsmedel, plutonium och strontium som skulle representera radioaktiva nuklider samt *Francisella tularensis* som är ett exempel på ett allvarligt smittämne.

Syftet med ett försöksområde skulle dels vara att kunna inhämta opåverkat jordmaterial för vidare studier i laboratorium (t.ex. lysimeterförsök), dels genomföra in situ undersökningar av exempelvis spridningsvägar med simili- eller spårämnen. Kriterier för ett för denna studie lämpligt område är att det ska vara närbeläget till Umeå, bestå av sandig jord samt inhysa partier med både in- och utströmning. Därtill är det en fördel om området ej störs av annan verksamhet samt att det förblir intakt för grävningsarbeten eller liknande under försökets gång.

Mot bakgrund av de ställda kraven har diskussioner förts med universitetet och SLU vad gäller lämpliga områden i Umeåtrakten. I nuläget ligger ett förslag från SLU att nyttja en del inom Svarbergets försökspark, Vindelns kommun.

8. Erkännanden

Projektet vill tacka Carin Stenlund i biblioteket. Utan dig hade inte många uppdateringar blivit gjorda! Vi vill även tacka Ulf Skyllberg, SLU, Britta Häggström samt Ronny Bergman (FOI NBC-Skydd) som bistått med värdefulla synpunkter på rapportens innehåll.

9. Referenser

Abd H., Johansson T., Golovliov I., Sandström G., Forsman M., (2003) *Survival and Growth of Francisella tularensis in Acanthamoeba castellanii*. Applied and Environmental Microbiology Vol 69, No 1, 600-606

Abu-Ashour J., Joy D. M., Lee H., Whiteley H. R., Zelin Z., (1993) *Transport of Microorganisms through soil*. Water, Air and soil Pollution 75: 141-158.

Alexander, M., (1997) *Sequestration and bioavailability of organic compounds in soil* In: Linz, D.G., and Nakles, D.V. Eds. Environmentally Acceptable Endpoints in Soil, AAEE, USA. pp 44 – 137

Anda P., del Pozo J. S., Garcia J. M. D., Escudero R., Pena F. J., G., Velasco L. P. S., Sellek R. E., Chillaron M. R. J., Serrano S., Navarro J. F. M., (2001) *Waterborne outbreak of Tularemia Associated with Crayfish Fishing*. Emerging Infectious Disease, Vol 7, No 3, supplement June 2001, 575-582

Andersson Y., Normann B., Tideström L., (1999) *Fakta om smittsamma sjukdomar från A till Å*. Smittskyddsinstitutet och Smittskyddsläkarföreningen. ISSN 1400-3473

Asche V., Haase A., (2002) *Burkholderia mallei and Burkholderia pseudomallei* Molecular Medical Microbiology, Volumes 1-3, p 961-972. Academic Press, London, UK, ISBN 0-12-677530-3

Askbrandt S., Melin J., Sandalls J., Rauret G., Vallejo R., Hinton T., Cremers A., Vandecastelle C., Lewyckyj N., Ivanov Y.A., Firsakova S.K., Arkhipov N.P., Alexakhin R.M. (1996) *Mobility of Radionuclides in Undisturbed and Cultivated Soils in Ukraine, Belarus and Russia Six Years After the Chernobyl Fallout*. J. Environ. Radioactivity, vol 31, no 3, pp 287-312

Atlas R.M., (2002) *Responding to the Threat of Bioterrorism: A Microbial Ecology Perspective- the Case of Anthrax*, Int. Microbiol 5: 161-167

Avila R., Bergman R., Scimone M., Fesenko S. Sancharova N., Moberg L., (2001) *A comparison of three models of 137Cs transfer in forest ecosystems*. Journal of Environmental Radioactivity 55 (2001) 315-32

Aylor D. E., Fry W. E., Mayton H., Andrade- Piedra J. L., (2001) *Quantifying the rate of release and escape of Phytophthora infestans sporangia from a Potato Canopy*. Phytopathology, 91:1189-1196

Baklanov A., Bergman R., Segerstahl B., (1996) *Radioactive sources in the Kola region: Actual and potential radiological consequences for man*. International Institute for Applied Systems Analysis, Laxenburg, Austria.

Bartley L. M., Donnelly C. A., Andersson R.M., (2002) *Review of foot-and-mouth disease survival in animal and on fomites*. The veterinary Record, November 30.

- Bear J., Wang F. and Shaviv A., (1998) *An N-dynamics Model for Predicting N-behavior Subject to Environmentally Friendly Fertilization Practices: I – Mathematical Model*. *Transport in Porous Media* 31: 249-274.
- Berdal B. P., Mehl R., Haaheim H., LØKsa M., Grunow R., Burans J., Morgan C., Meyer H., (2000) *Field detection of Francisella tularensis*. *Scand J Infect Dis* 32: 287-291
- Berdal B. P., Mehl R., Meidall N. K., Lorentzen-styr A-M, Scheel O., (1996) *Field Investigation of tularemia in Norway*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 13 191-195
- Berglind, R., (1994) *Environmental exposure and toxicity assessment of arsenic compounds*. In Könberg M., Berglind R., Fängmark I., Granbom P-P., Hedqvist R., Hägglund B., Karlsson E., Lindberg G., Runn P., Winter S., (1994): *Acute consequences of accidental releases of lewisite*. FOA-AH-40033-4.5, pp. 107-113.
- Berry D. F., Hagedorn C., (1991) *Soil and Groundwater Transport of Microorganisms*. In *Assessing Ecological Risks of Biotechnology*. Ed. By L. R. Ginzbury, Boston, Butterworth-Heniemann.
- Besnard V., Federighi M., Cappelier J. M., (2000) *Development of a direct viable count procedure for the investigation of VBNC state in Listeria monocytogenes*. Abstract, *Letters in Applied Microbiology*, Vol 31:1 pp77
- IAEA-BIOMASS-1 (2002) *Modelling the migration and accumulation of radionuclides in forest ecosystems*. Report of the Forest the Forest Working Group of BIOMASS Theme 3. August 2002.
- Bogosian G., Aardema N. D., Bourneuf E. V., Morris P. J. L., O'Neil J. P., (2000) *Recovery of Hydrogene Peroxidase-sensitive Culturable cells of Vibrio vulnificus gives the Appearance of Resuscitation from a Viable but Nonculturable State*. *Journal of Bacteriology*, Vol 182, No 18, 5070-5075.
- Bogosian G., Morris P. J. L., O'Neil J. P., (1998) *A Mixed culture Recovery method Indicates that Enteric bacteria Do Not Enter the Viable but Nonculturable State*. *Applied and Environmental Microbiology* Vol 64, No 5, 1736-1742.
- Bogosian G., Sammons L. E., Morris P. J. L., O'Neil J. P., Heitkamp M. A., Weber D. B., (1996) *Death of Escheria coli K-12 Strain W3110 in Soil and Water*. *Applied and Environmental Microbiology* Vol 62, No 11, 4114-4120.
- Boisier P., Rahalison L., Rasolomaharo M., Ratsitorahina M., Mahalfy M., Razafimahefa M., Duplantier J-M., Ratsifasoamanana L., Chanteau S., (2002) *Epidemiologic Features of Four Successive Annual outbreaks of Bubonic Plague in Mahajanga, Madagascar*. *Emerging Infectious Disease*, Vol 8, No 3, 311-316
- Boisier P., Rasolomaharo M., Ranaivoson B., Rakato L., Andrianirina Z., Andriamahefazafy B., Chanteau S., (1997) *Urban Epidemic of Bubonic Plague in Mahajanga, Madagascar: Epidemiological Aspects*. *Tropical Medicine and International health*, Vol 2, No 5, pp 422-427

Braud I., Dantas-Antonino A.C., Vauclin M., Thony J.L., Ruelle P. (1995) *A simple soil-plant-atmosphere transfer model (SiSPAT) development and field verification*. Journal of Hydrology 166 (1995) 213-250

Brown M. R. W., Barker J., (1999) *Unexplored Reservoirs of Pathogenic Bacteria: Protozoa and Biofilms*. Trends in Microbiology, Vol 7, No 1, pp 46-50

Centers for Disease Control and Prevention (2003) <http://www.cdc.gov/aboutcdc.htm>,

Chaiyanan S., Chaiyanan S., Huq A., Maugel T., Colwell R. R., (2001) *Viability of the Nonculturable Vibrio Cholerae O1 and O139*. System Appl. Microbiol. 24, 331-341

Chanteau S., Ratsitorahina M., Rahalison L., Rasoamanana B., Chan F., Boisier P., Rabeson D., Roux J., (2000) *Current epidemiology of human plague in Madagascar*. Microbes and Infection, 2:25-31

Chanteau S., Ratsifasoamanana L., Rasoamanana B., Rahalison L., Randriambelosa J., Roux J., Rabeson D., (1998) *Plague, a Reemerging Disease in Madagascar*. Emerging Infectious Disease, Vol 4, No 1, 101-104

Chekai, R.T., Philips, C.T., and Kuperman, R.G., (2000) *Toxicity determination of chemical agents to Fosomia candida in different soil types*. Abstract 5D/p22 In. Third SETAC World Congress, Brighton, UK. 21 – 25 May 2000.

Cho J-C., Kim S-J., (1999) *Viable, but non-culturable, state of a green fluorescence protein-tagged environmental isolate of Salmonella typhi in groundwater and pond water*. FEMS Microbiology letters 170, pp 257-264

Chugonov V.V., Ramzaev P.V., (1995) *The radioecological consequences after explosion of the most powerful atomic bomb on Novaya Zemlya*. Environmental Radioactivity in the Arctic, p 335 ed. P. Strand och A. Cooke.

Coughtrey P.J., Jackson D., Jones C.H., Kane P., Thorne M.C., (1983) *Radionuclide Distribution and Transport in Terrestrial and Aquatic Ecosystems*. Vol 1, A.A., Balkema, p-94-98.

Coughtrey P.J., Jackson D., Jones C.H., Kane P., Thorne M.C., (1984) *Radionuclide Distribution and Transport in Terrestrial and Aquatic Ecosystems*. Vol 4, A.A. Balkema p-2,6, 249.

Colwell R.R., Brayton P., Herrington D., Tall B., Huq A., Levine M. M., (1996) *Viable but non-culturable Vibrio cholerae O1 revert to a cultivable state in the human intestine*. World journal of Microbiology and Biotechnology, Vol 12, pp 28-31

Colwell R.R., Huq A., (1994) *Environmental Reservoir of Vibrio cholerae. The causative Agent of Cholera*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 740, 44-54.

- Colwell R.R., Brayton P.R., Grimes D. J., Roszak D. B., Huq A., Palmer L. M., (1985) *Viable but non-culturable Vibrio cholerae and related pathogens in the environment: implications for release of genetically engineered microorganisms*. Biotechnology, Vol 3, pp 817-820
- Committee on Government Operations (1969) *Environmental dangers of open-air testing of lethal chemicals*, Union Clalander No 265, U.S. Government Printing Office, Washington, p 62
- Crenshaw M., Hernon-Kenny L., Moore F., Rusek Th, Cummings D. & Pence M., (1996) *Degradation of GB, VX and HD in groundwater*. Proc. ERDEC Sci. Conf. Chem. Biol. Def. Res. Ed Berg D.A.
- Dance A. B. D., (2000) *Ecology of Burkholderia pseudomallei and the interactions between environmental Burkholderia spp. and human-animal hosts*. Acta Tropica 74 (2000) pp 159-168
- Dance A. B. D., (2002) *Meliodiosis*. Current Opinion in Infectious Diseases, 15:127-132
- Davies G., (2002) *The foot and mouth disease (FMD) epidemic in the United Kingdom 2001*. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases 25, 331-343.
- Deinum G., Baart A. C., Bakker D. J., Duyzer J. H., van den Hout K. D., (1995) *The Influence of Uptake by Leaves on Atmospheric Deposition of Vapor-phase Organics*. Atmospheric Environment Vol. 29. No. 9, pp. 997-1005.
- de Vos V., (1990) *The Ecology of Anthrax in the Kruger national Park, South Africa*. Salisbury Med. Bul. 68 (1990) Spec suppl, 19-23.
- Drenth A., Janssen E. M., Govers F., (1994) *Formation and survival of oospores of Phytophthora infestans under natural conditions*. pp 118-130 in: *Molecular Genetic evidence for a new sexually reproducing population of Phytophthora infestans in Europe*. Drenth A., Landbrouwuniversiteit, Wageningen.
- Duodarev A.A., Bylinkin S.V., Chugonov V.V. Miretsky G.I., Popv A.O., Rahola, T., Jaakola T., Rissanen K., Ilukka E., Suomela M., Tillander M., (1995) *The radioecological situation in the reindeer herding area of the Kola Peninsula*. Environmental Radioactivity in the Arctic, p 282. Ed. P. Strand and A. Cooke.
- Edwards C., (2000) *Problems Posed by Natural Environments for Monitoring Microorganisms*. Molcular Biotechnology, Vol 15:211-223
- Eisenbud M., Gesell T., (1997) *Environmental Radioactivity*. 4:th edition, Academic Press
- Ellis J., Oyston P. C. F., Green M., Titball R. W., (2002) *Tularemia*. Clinical Microbiology rewievs, Vol 15, No 4, 631-646.
- Eriksson J., (2003) *Retention and mobilisation of trinitrotoluene, aniline, nitrobenzene and toluene by soil organic matter*. Doctoral Thesis , Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå

Eriksson Å., Lönsjö H., Karlström F., (1974) *Beräknade effekter av radioaktivt nedfall på jordbruksproduktionen i Sverige*. SLU-REK-73

Fang N. W., Hägglund L., Nygren Y. & Rittfeldt L., (1998) *Impact of VX simulatnts on the environment and implications on the persistency of VX*. Defence Research Establishment, Department of NBC Defence. Manuscript.

First Workshop of the IUR Task Force "Radioecology and Waste" Merlewood, 27-28 February 2003 MINUTES Brenda Howard, Rodolfo Avila and Elisabeth Leclerc-Cessac

Ficht T. A., (2003) *Intracellular survival of Brucella: defining the link with persistence*. Veterinary Microbiology 92 213-223.

Forsman M., Henningson E., Larsson E., Johansson T., Sandström G., (2000) *Francisella tularensis does not manifest virulence in viable but non-culturable state*. FEMS Microbiology Letters, 31:217-224

Forsman M., (1998) *Förstudie- Långtidseffekter av biologiska stridsmedel*. FOA-R—98-00838-170--SE

Foster J. W., Spector M. P., (1995) *How Salmonella Survives Against all the Odds*. Annu. Rev. Microbial., 49:145-174

Fredriksson L. (1968) *Expected content of ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs in Swedish crops and milk at a total deposition in the plowlayer of 1 Ci ⁹⁰Sr and 1 Ci ¹³⁷Cs per km²*. FOA C 4354-28

Fuhremann T.W. & Lichtenstein E.P., (1978) *Release of soil-bond Methyl (¹⁴C)-parathion residues and their uptake by earthworm and oak plants*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 26, pp. 605-610.

Gerba C. P, Bitton G., (1984) *Microbial Pollutants: their Survival and Transport Pattern to Groundwater*. Groundwater Pollution Microbiology. Ed. By G Bitton, C. P. Gerba, New York, Wiley 1984.

Ghanem R.and Dham S., (1998) *Stochastic Finite Element Analysis for Multiphase Flow in Heterogeneous Porous Media*. Transport in Porous Media 32: 239-262,1998.

Greco D., Allegrini G., Tizzi T., Ninu E., Lamanna A., (1987) *A Waterbourne Tularemia Outbreak*. Eur. J. Epidemiol., Vol 3, no 1, 35-38

Gevao, B., Semple, KT., Jones, KC., (2000) *Bound pesticide residues in soils: a review*. Environmental Pollution, 108, 4-14

GMS dokumentation vilket inkluderar MODFLOW, MT3D, RT3D och FEMWATER, se www.ems-i.com

Hansen S., Jensen H.E., Nielsen N.E., Svendsen H., (1993) *The Soil Plant System Model DAISY*. Jordbruksforlaget 1993.

- Házi G., Imre A. R., Mayer G, Farkas I., (2002) *Lattice Boltzmann methods for two-phase flow modelling*. Annals of Nuclear Energy 29, 1421-1453.
- Harb O. S., Gao L-Y., Kwaik Y. A., (2000) *From protozoa to mammalian cells: a new paradigm in the life cycle of intracellular bacterial pathogens*. Environmental Microbiology, 2(3), 251-265
- Hugh-Jones M.E., de Vos V., (2002) *Anthrax and wildlife*. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 21(2), 359-383
- Hunt, J.W., Anderson, B.S., Philips, B.M., Tjeerdema, R.S., Puckett, H.M., de Vlaming, V., (1999) *Patterns of aquatic toxicity in an agriculturally dominated coastal watershed in California*. Agridulture, Ecosystems and Environment, 75, 75-91
- Hämmann, M., and Gupta, S.K., (1998) *Derivation of trigger and clean-up values for inorganic pollutants in the soil*. Environmental Documentation No 83: Soil, Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape, CH, Berne
- Hoffman, DJ., Burton, Jr. GA., Cairns, Jr. J. eds, (1995) *Handbook of Ecotoxicology* CRC Press, pp 1-10
- Holstad A., (2000) *A mathematical and numerical model for reactive fluid flow systems*. Computational Geosciences 4 (2000) 103-139
- Howard, P.H., (1997) *Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals*. Lewis Publisher, p. 1156.
- Hu Y. M., , Butcher P. D., Sole K., Michison D. A., Coates A. R. M., (1998) *Protein synthesis is shutdown in dormant Mycobacterium tuberculosis and is reversed by oxygen or heat shock*. FEMS Microbiology letters 158:139-145
- Hägström, B., Rejnus, L., Fällman, Å., Henningsson, K., Hessel, F., Johansson, P-E., Liljedahl, B., Lindmark, G., Olsson, N., Pihl, K., Sandström, B., Westergren, H., (2002) *Förstudie NBC-ledningssystem*. FOI-R--483--SE
- Inglis J.J.T., Mee J.B., Chang B. J., (2001) *The Environmental Microbiology of Melidiosis*. Reviews in Medical Microbiology, 12(1) 13-20
- Inglis T. J. J., Rigby P., Robertsson T. A., Dutton N. S., Hendersson M., Chang B. J., (2000) *Interaction between Burkholderia pseudomallei and Achantamoeba Species results in Coiling Phagocytosis, Endamebic Bacterial Survival and Escape*. Infection and Immunity, Vol 68, No 3, 1681-1686
- Inglis T. J. J., Garrow S. C., Adams C., Hendersson M., Mayo M., Currie B. J., (1999) *Acute Melidiosis outbreak in Western Australia*. Epidemiol. Infec. 123:437-443
- International workshop arranged by ANDRA and IUR on *Mobility in Biosphere of Iodine, Technetium, Selenium and Uranium* in Nancy, France 3-5 april 2002

Ivanov .A., Lewyckyj N., Levchuk S.E., Prister B.S., Firsakova S.K., Arkhipov N.P., Arkhipov A.N., Kruglov S.V., Alexkhin R.M., Sandalls J., Askbrandt, S., (1997) *Migration of ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr from Chernobyl Fallout in Ukrainian, Belarussian and Russian Soils*. J. Environ. Radioactivity, Vol. 35, No. 1, pp 1-21

Janakiraman A., Leff L. G., (1999) *Comparison of Survival of different species of Bacteria in freshwater Microcosms*. Journal of freshwater ecology, Vol 14, No 2, 233-240.

Johnson M.K., (1975) *The delayed neuropathy caused by some organophosphorus esterases: Mechanism and challenge*. CRC Crit. Rev. Toxicol. 3, 289-316;

Johnson M.K., (1982) *The target for initiation of delayed neurotoxicity by organophosphorus esters: Biochemical studies and toxicological applications*. Rev. Biochem. Toxicol. 4, 141-212

Jordbruksdepartementet (2001) <http://jordbruk.regeringen.se/mul/>

Jury W. A., Spencer W. F., Farmer W. J., (1983) *Behavior Assessment Model for Trace Organics in Soil: I. Model Description*. J. Environ. Qual., Vol. 12, no. 4, 1983.

Kadlec J. A., (2002) *Avian botulism in Great Salt Lake marshes: perspectives and possible mechanisms*. Wildlife Society Bulletin, 30(3): 983-989

Karlsson M. E., Marchner H., Winter S., Nygren K., Träff M., Runeberg L., Sandgren K., (1988) *Metoder för bedömning av effekter vid och efter C-anfall*. FOA A 40061-4.5.

Karlsson, E., Runn, P. & Sjöström, J., (1998) *Miljöeffekter av kemiska vapen*. Användarrapport. FOA-R—98-00839-170—SE.

Kathren R.L. (1984) *Radioactivity in the Environment. Sources , distribution and surveillance*. Harwood Academic Publishers p 257.

Keymeulen R., Schamp N. & Van Langenhove H., (1995) *Uptake of Gaseous Toluene in Plant Leaves: A Two Compartment Model*. Chemosphere. Vol. 31, No. 8, pp, 3961-3975, 1995

Kopecz P., Schäfer J., Thieme J., (1996) *Review of suspected warfare-related environmental damage in the Federal Republic of Germany*, 2nd, Enlarged edition. Part 3: Chemical Agents Dictionary. Umweltbundesamt (Federal Environmental Agency).

Larsson M., (2003) *Hydrogeologiska transportprocesser och modeller för föroreningsspridning*. FOI-R--0830--SE

La Scola B., Raoult D., (2001) *Survival of Coxiella burnetti within free-living amoeba Acanthamoeba castellanii*. Clin. Microbiol. Infect., 7:75-79.

Lawrence J. J., Hendry M. J., (1996) *Transport of Bacteria through Geologic Media*. Can. J. Microbiol. 42:410-422

- Lichtenstein, E.P, Katan. Y. & Anderegg, B.A., (1977) *Binding of "persistent" an "non-persistent" 14C-insecticides in environmental soils*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 25, p. 43.
- Lipp E. K., Huq A., Colwell R. R., (2002) *Effects of Global climate on Infectious Disease: the Cholera Model*. Clinical Microbiological Reviews, Vol.15, No. 4, p. 757-770.
- Lux D., Kammerer L., Rühm W., Wirth E., (1995) *Cycling of Pu, Sr Cs and other longliving radionuclides in forest ecosystems of the 30-km zone around Chernobyl*. The Science of the Total Environment, Vol. 173/174, pp 375-384
- Lyman W.J., Reehl W.F., Rosenblatt D.H., (1990) *Handbook of chemistry property estimation methods. Environmental behaviour of organic compounds*. American Chemical Society, DC, pp. 4-1 – 4.33.
- Makarov V.I., Ankilov A.N., Koutsenogi, A.I. Borodu U.N., Samsonov Y.N., (1996) *Efficiency of the Inertial Wind Capture of Pesticide Aerosols by Vegetation Species*. Aerosol.Sci. Vol. 27, Suppl. I, pp. S67-S68. 1996
- Manahan S. E., (1994) *Environmental Chemistry*. Sixth Edition CRC Press;
- Manchee R J., Broster M. G., Anderson I. S., Henstridge R. M., (1983) *Decontamination of Bacillus Antracis on Gruinard Island*. Nature Vol 303, May 1983, 239-240
- Marrs T. C., Maynard R. L., Sidell F. R., (1996) *Chemical Warfare Agents: Toxicology and Treatment*, John Wiley and Sons: Chichester, pp. 88-137
- Matthew M., Hopkins L., Fauci J., (2002) *A computational model of the collective fluid dynamics of motile micro-organisms*. Journal of Fluid Mechanics, Volume 455, Number 1 (March 25, 2002), pp. 149-174
- McCrumb F. R., (1961) *Aerosol infection of man with Pasteurella tularensis*. Bacterial. Rev. 25, 262-267
- Meyer R. F., Knudsen C. R., (2001) *Foot-and-Mouth Disease: A Review of the Virus and the Symptoms*. Journal of environmental health, November 2001.
- Mizubuti E. S. G., Aylor D., Fry E. W., (2000) *Survival of Phytophthora infestans Sporangia Exposed to Solar radiation*. Phytopathology, 90:78-84
- Moore J. E., (2001) *Bacterial dormancy in campylobacter: abstract theory or cause for concern?* International Journal of Food Science and Technology, 36, 593-600
- Munro N. B., Talmage S. S., Griffin G.D., Waters L.C., Watson A.P., King J.F., (1999) *The Sources, Fate, and Toxicity of Chemical Warfare Agent Degradation Products*. Environmental Health Perspectives. Volume 107, Number 12. pp 933-974.
- Müller-Lemans H., van Dorp F., (1996) *Bioturbation as a Mechanism for Radionuclide Transport in Soil: Relevance of Earthworms*. Journal of Environmental Radioactivity. Volume 31, Number 1, pp 7-20.

Nemeth-Konda L., Füleky G.Y., Morovjan G.Y., Csokan P., (2002) *Sorption behaviour of acetochlor, atrazine, carbendazim, diazinon, imidacloprid, and isoproturon on Hungarian agricultural soil*. Chemosphere, 48, 545-552.

Niederhauser J. S., (1991) *Phytophthora infestans: the Mexican connection*. p 25-45 in: *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. Lucas J. A., Shattock R. C., Shaw D. S., Cooke L. R., Cambridge University Press. Cambridge.

Nisbet A.F., Salbu B., Shaw S., (1993) *Association of Radionuclides with Different Molecular Size Fractions in Soil Solution: Omplications for Plant Uptake*. J. Environ. Radioactivity, Vol 18, pp 71-84

Norlander L., (2000) *Q fever epidemiology and pathogenesis*. Microbes and Infection, 2:417-424

Nourgaliev R.R., Dinh T.N., Theofanous T.G., Joseph D., (2003) *The lattice Boltzmann equation method: theoretical interpretation, numerics and implications*. International Journal of Multiphase Flow 29 (2003) 117-169

Nyholm-Westin S., Winter S., Karlsson E., Hin A., Oeseburg F., (1998) *On Modelling of the Evaporation of Chemical Warfare Agents on the Ground*. Journal of Hazardous Materials A 63 (1998) 5-24.

Nylen T., (1996) *Uptake, turnover and transport of radiocaesium in boreal forest ecosystems*. FOA-R--96-00242-4.3--SE

Oeseburg F. Hin A. Lalleman F. Jager H. Winter S. Karlsson E. Johansson P-E., (2001) *Evaporation of CW agent from various substrates: Wind tunnel experiments and validation of evaporation*. Stockholm, June 15-19 2001, Umeå, FOI 2001, 6 p. FOI-S--0102--SE, Proc. Seventh Int. Symp. Prot. Chem. Biol. Warfare Agents.

Oliver J. D., (2000) *The Public Health Significance of Viable but Nonculturable Bacteria*. Nonculturable Microorganisms in the Environment. Ed. By R. R. Colwell and D. J. Grimes, ASM Press 2000, Washington D.C.

Oliver J. D., (1995) *The Viable but non-culturable state in the human pathogen Vibrio vulnificus*. FEMS Microbiology letters 113:203-208

Olsson G. E., Dalerum F., Hörnfeldt B., Elgh F., Palo T. R., Juto P., Ahlm C., (2003) *Human Hantavirus Infection in Sweden*. Emerging Infectious Disease, Vol 9, No 11, November 2003.

Parker R.R., Steinhaus E. A., Kohls G. M., Jellison W. L., (1951) *Contamination of natural waters and mud with Pasteurella tularensis and Tularemia in Beavers and Muskrats in the northwestern United States*. Federal security Agency, national institute of Health Bullentin, No 193. US government Printing Office, Washington.

Phelan J.M., Webb S.W., (1999) *Chemical Soil Physics Phenomena for Chemical Sensing of Buried UXO*. Proceedings of UXO Forum 1999, May 25-27, 1999. Department of Defense Explosive Safety Board and United States Army Environmental Center.

Philips, C.T., and Kuperman, R.G. Chekai, R.T., (2002) *Toxicity of chemical-warfare agent HD to Fosomia candida in different soil types*. European Journal of Soil Biology, 38, 281-285.

Pillay B., Pillay D., Nakier S., (2000) *Potential Threat of Viable but Non-Culturable Bacteria to Drinking Water Supplies*. ASM 100th General Meeting, Session No. 16/I, Abstract I-88

Pomanskaia L. A., (1957) *The survival of the organisms of tularemia on grain and straw*. J. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol. 28 pp 597-603

Pommepuy M., Butin M., Derrien A., Gourmelon M., Colwell R. R., Cormier M., (1996) *Retention of Enteropathogenicity by viable but Nonculturable Escheria coli exposed to Seawater and Sunlight*. Applied and Environmental Microbiology, Vol 62, No 12, pp 4621-4626

Porter L. D., Johnson D. A., (2002) *Survival of sporangia and zoospores of Phytophthora infestans in surface waters*. Phytophatology, 92, Suppl.6.

Rahman I., Shahamat M., Chowdhury M. A. R., Colwell R. R., (1996) *Potential Virulence of Viable but Nonculturable Shigella dysenteriae Type 1*. Applied and Environmental Microbiology, Vol 62, No 1, pp 115-120

Raupach M.R., Coppin P.A., Legg B.J., (1986) *Experiments on Scalar Dispersion Within a Model Plant Canopy Parti: The Turbulence Structure*. Boundary-Layer Meteorology 35 (1986) 21-52.

Reichman R., Wallach R., and Mahrer Y., (2000) *A combined soil-atmosphere model for evaluating the fate of surface-applied volatile organic chemicals. 1. Model development and verification*, Environ. Sci. and Tech. , 34(7):1313-1320.

Roberts A. M., Deacon F. M., (2002) *Gravitaxis in motile micro-organisms: the role of fore-aft body asymmetry*. J. Fluid Mech. (2002), vol. 452, pp. 405-423

Rodriguez-Zaragoza S., (1994) *Ecology of Free-living Amoeba*. Critical reviews in Microbiology, Vol 20(3):225-241

Rotz L. D., Khan A. S., Lillibridge S. R., Ostroff S. M., Hughes J. M., (2002) *Report summary- Public Health Assessment of Potential Biological Terrorism Agent*. Emerging Infectious Diseases, Vol 8, No.2, February 2002.

Rustscheff S., Norlander L., Macellaro A., Sjöstedt A., Vene S., Carlsson M., (2000) *A case of Q fever Acquired in Sweden and Isolation of the Probable Ethiological Agent, Coxiella burnetti from an indigenous Source*. Scand J Infect Dis. 32:605-607

Santesson, J., (1984) *C-ordbok – förkortningar, akronymer och trivialnamn*. FOA raport A 40048-C1.

Shen S., Leclerc M. Y., (1997) *Modelling the turbulence structure in the canopy layer*. Agricultural and Forest Meteorology 87 (1997) 3-25.

Small, M. J., (1984) *Compounds formed from the chemical decontamination of HD, GB, and VX and their environmental fate*. Technical Report 8304; AD A149515. Fort Detrick, MD: U.S. Army Medical Bioengineering Research and Development Laboratory, 1984.

Smittskyddsinstitutet (2003) <http://www.smittskyddsinstitutet.se/>

Sokolik G.A., Ivanova T.G., Leinova S.L., Ovsianikova S.V., Kimlenko I.M., (2001) *Migration ability of radionuclides in soil-vegetation cover of Belarus after Chernobyl accident*. Environmental International, vol. 26, pp 183-187.

Suomela M., Bergman R., Bunzl K., Jaakola T., Rahola T., Steinnes E. *Effect of Industrial Pollution on the Distribution Dynamics of Radionuclides in Boreal Understorey Ecosystems (EPORA)*. STUK A-168 August 1999.

SRIJ, Stanford Research Institute Journal, (1961) Plansch publicerad i Stanford Research Institute Journal, Third Quarter 1961.

Stagnitti F., (1999) *A Model of the Effects of Nonuniform Soil-Water Distribution on the Subsurface Migration of Bacteria: Implications for Land Disposal of Sewage*. PERGAMON Mathematical and Computer Modelling 29, 41-52.

Stegeman A., Elbers A., de Smit H., Moser H., Smak J., Pluimers F., (2000) *The 1997-1998 epidemic of classical swine fever in the Netherlands*. Veterinary Microbiology 73:183-196

Steinert M., Emödy L., Amann R., Hacker J., (1997) *Resuscitation of Viable but Nonculturable Legionella pneumophila Philadelphia JR32 by Acanthamoeba castellanii*. Applied and Environmental Microbiology, Vol 63, No 5, pp 2047-2053

Suchkov Y. G., Khydyakov I. V., Emelayanenko E. N., Levi M. I., Pushkareva V. I., Suchkov I. Y., Litvin V. Y., Kulesh E. V., Zotova R. S., Gintsburg A. L., (1997) *On the possibility of the Preservation of Yersinia pestis in the latent (Nonculturable) form*. Zh. Mikrobiol. (Moscow), No 4, 42-46

Szafraniec, L.J., Szafraniec, L.L., Beadry, W.T. & Ward, J.R., (1990) *On the Stoichiometry of Phosponothiolate Ester Hydrolysis*. U.S. Army Chemical Research, Development and Engineering Center, Aberdeen Proving Ground, MD.

Subcommittee on toxicity values for selected nerve and vesicant agents, (1997). *Review of acute human toxicity estimates for selected chemical-warfare agents*. <http://books.nap.edu/books/>; National Academy Press Washington, DC

Tan Y., Bond W., (1995) *Modelling subsurface transport of microorganisms, In Environmental Hydrology*. Volume Water Science and Technology Library, (Edited by V.P. Singh), Volume 15, Chapter 9, pp. 321-356, Kluwer Academic, Dordrecht, (1995).

Tegnell A., Wahren B., Elgh F., (2002) *Smallpox- eradicated but a growing terror threat*. Clinical Microbiology Infection 2002;8:504-509

- Thorstenson D.C., Pollock D.W., (1989) *Gas Transport in Unsaturated Zones: Multicomponent Systems and the Adequacy of Fick's Laws*. Water Resources Research, Vol. 25, no. 3. pp 477-507.
- Trapp R., (1985) *The Detoxification and Natural Degradation of Chemical Warfare Agents*. Stockholm International Peace Research Institute (SIPRI). Taylor & Francis, London and Philadelphia, Great Britain, 194 p.
- Turkensteen L. J., Flier W. G., Wanningen R., Mulder A., (2000) *Production, survival and infectivity of oospores of Phytophthora infestans*. Plant Pathology 49:688-696
- Tärnvik A., Sandström G., Sjöstedt A., (1996) *Epidemiological analysis of tularemia in Sweden 1931-1993*. FEMS Immunology and Medical Microbiology 13:201-204
- Van Dijke M. I. J. McDougall S.R. and Sorbie K.S., (2001) *Three-Phase Capillary Pressure and Relative Permeability Relationships in Mixed-Wet Systems*. Transport in Porous Media 44: 1.32, 2001.
- van Kampen K.R., James L.F., Rasmussen J., Huffaker R.H., Fawcett M.O., (1969) *Organic phosphate poisoning of sheep in Skull Vally, Utah*. Journal of the American Veterinary Medical Association, (J.A.V.M.A.) 154 (6),623-630.
- Vyrostekova V., Gurycova D., Kocianova E., Rehacek J., (2001) *Ticks as Important Epidemiological Indicators of Natural Foci of Tularemia in Slovakia*. Biologia, Bratislava, 56/Suppl. 9: 97-103, 2001
- Wai S. N., Moriya T., Kondo K., Misumi H., Amako K., (1996) *Resuscitation of Vibrio cholerae O1 strain TSI-4 from a viable but nonculturable state by heat shock*. FEMS Microbiology Letters, Vol 136, Issue 2, pp 187-191.
- Walker C.H., Hopkin S.P., Sibly R.M., Peakall D.B., (2001) *The fate of organic pollutants in individuals and ecosystems*, Chapter 5 in Principles of Ecotoxicology. Second Edition, Taylor and Francis, NY, pp 59 – 90.
- Watson A.P., Adams J.D., Cerar R.J., Hess T.L., Kistner S.L., Leffingwell S.S., MacIntosh R.G., Ward J.R., (1992) *Estimated general population control limits for unitary agents in drinking water, milk, soil and unprocessed food items*. Oak Ridge National Laboratory, ORNLTM-12035. p 47.
- Webb S. W., Ho C. K., (1998) *Enhanced Vapor-Phase Diffusion in Porous Media*. Sandia Report. SAND 98-2772
- Webb S.W., Pruess K., (2003) *The Use of Fick's Law for Modeling Trace Gas Diffusion in Porous Media*. Transport in Porous Media 51: 327-341.
- Wester, R.M., Tanojo, H., Maibach, H.I., Wester, R.C., (2000) *Predicted chemical warfare agent VX toxicity to uniformed soldier using parathion in vitro human skin exposure and absorption*. Toxicology and Applied Pharmacology, 168, 149-152.

Whitby S. M., (2001) *The potential use of plant pathogens against crops*. Microbes and Infection 3:73-80.

Wilber L. A., (2000) *Ultraviolet Light Induces the VBNC State in Salmonella typhimurium and Escherchia Coli*. ASM 100th General Meeting, Session No. 16/I, Abstract I-86.

Willis A. E., (2002) *Landscape with Dead Sheep: What they did to Gruinard Island*. Medicine, conflict and Survival, Vol 18, 199-211.

Wilson J. B., Russel K E., (1964) *Isolation of Bacillus Antracis from Soil Stored 60 Years*. J bacterial. Vol 87, 237-238.

Winiecka-Krusnell J., Linder E. (2001) *Bacterial Infections of free-living amoebae*. Res Microbiol. 152:613-619

Xu H-S., Roberts N., Singelton F. L., Atwell R. W., Grimes D. J., Colwell R. R., (1982) *Survival and Viability of Nonculturable Escheria coli and Vibrio Cholerae in the Estaurine and Marine Environment*. Microb. Ecol. 8:313-323

Yang S., (2000) *Melidiosis research in China* , Acta Tropica 77 pp 157-165

Yates M. V., Gerba C. P., Kelley L.M., (1985) *Virus Persistence in Groundwater.*, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 49, No 4.

Yiacoumi S., Rao A.V., (1996) *Organic solute uptake from aqueous solutions by soil: a new diffusion model*. Water Resour. Res. 32 2, 431–440.

Ågren G., (1998) *Transfer of Radiocaesium to the Swedish Population and Subgroups of special interest*. SLU Agraria 132.