

Vesiturvallisuuuden uhat ja niiden mittaaminen

Ilkka Miettinen



TERVEYDEN JA HYVINVOINNIN LAITOS



Talousveden laadun valvonnan tavoitteet

- Talousvedessä ei saa olla pieneliöitä, loisia tai mitään aineita sellaisina määrinä tai pitoisuuksina, joista voi olla vaaraa ihmisten terveydelle
- Terveysperusteiset mikrobiologiset ja kemialliset laatuvaatimukset

Talousveden laadun valvonta

Talousvesiasetus 461/2000

- Analyysit suorittavan laboratorion tulee olla Eviran hyväksymä akkreditoitu laboratorio

MIKROBIOLOGISET LAATUVAATIMUKSET

- Ulostesaastutuksen havainnointi - indikaattorimikrobit: *Escherichia coli* –bakteeri ja enterokokit

	Enimmäistiheys
<i>Escherichia coli</i>	0 pmy 100 ml ⁻¹
Enterokokit	0 pmy 100 ml ⁻¹

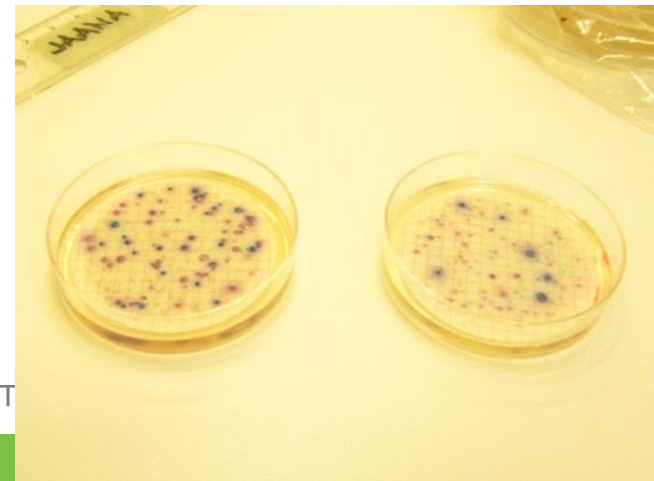
pmy = pesäkettä muodostava yksikkö

Vesimikrobiologisia menetelmiä

Talousveden laadun viranomaisvalvontaan hyväksyttävät **koliformisten bakteerien ja *Escherichia coli***-bakteerin määrittäminen

Asetus 461/2000 isot laitokset

- E.coli/koliformiset bakt.: SFS-EN ISO 9308-1 (LTTC Tergitol)
- Lisäksi sallitaan SFS 3016 (mEndo Agar LES)
- ISO 9308 (osat 1 ja 2) *Escherichia coli* ja koliformiset bakteerit
 - Osa 1: Chromocult Coliform agar
 - Osa 2: Colilert -menetelmään pohjautuva MPN-menetelmä
- Suolistoperäiset enterokokit
 - SFS-EN ISO 7899-2
- SFS-EN ISO 16266 *Pseudomonas aeruginosa* havaitseminen ja lukumäärän määrittäminen.



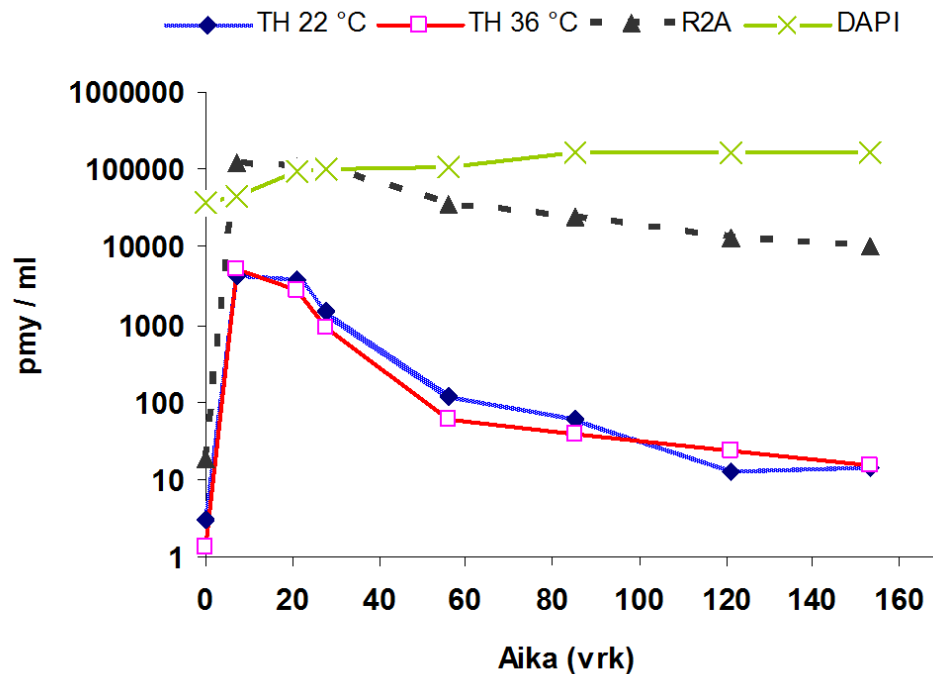
Uudet tekniikat E.coli/koliformisten bakteerien havaitsemiseen

- Indikaattoribakteerien tunnistus ja kvantitointi
 - Bakteerien entsyymaattiset reaktiot → metaboliatuotteiden tunnistus
 - PMEUCol/Coli-Line
 - Colifast
 - Endetec
 - mbOnline-COLIGUARD
- Parhaimmillaan näytteenotto, inkubointi, detektio ja tulosten lähettäminen



Mikrobien yleisiä määrittämenetelmiä - viljelytekniikat

- Heterotrofinen pesäkeluku 22/36 SFS-EN ISO 6222
 - Pesäkelaskenta (TH-alusta)
 - THL: R2A-pintalevitysviljely (parempi HPC saanto)
- ISO 6461-2 Clostridium perfringens
 - Kasvatusmenetelmä, TSC-alustalla anaerobisesti



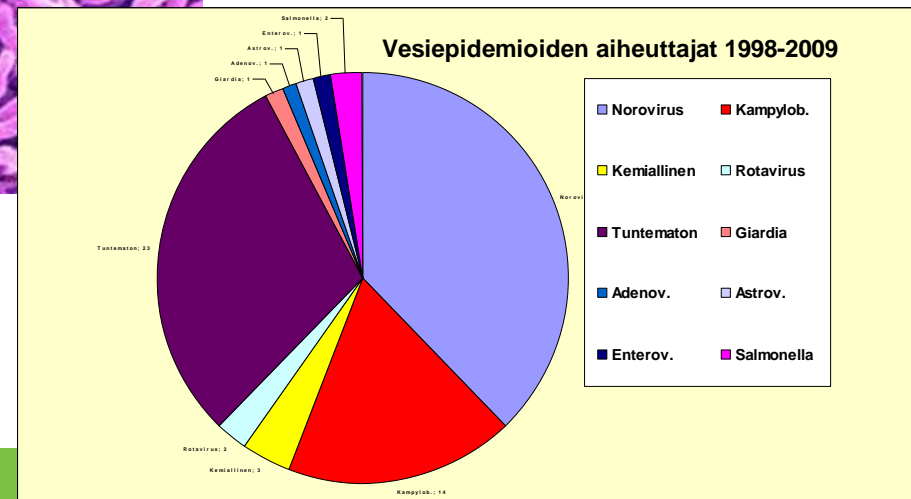
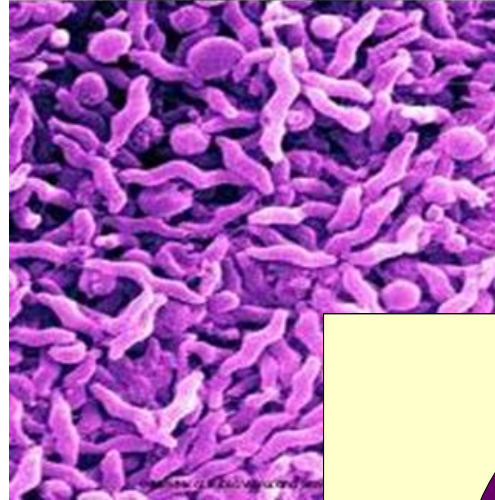
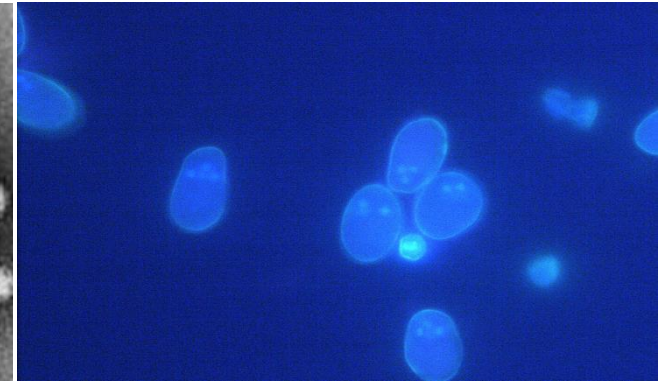
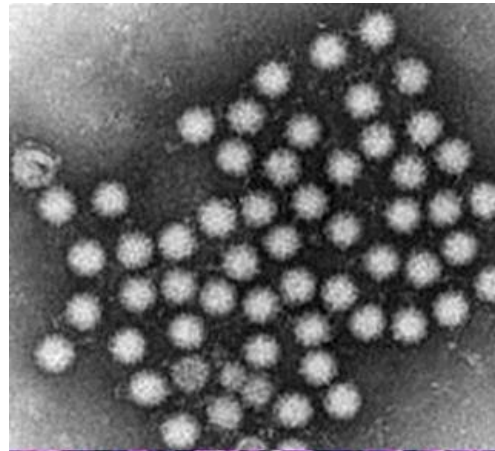
Homeet ja aktinomykeetit (sädesienet)

- Pitoisuudet talousvedessä yleensä alhaisia
- Näytettä konsentroidaan suodattimelle
- Elatusalustat:
 - Homeet: M2 (2% mallasuuteagar),
Rose-Bengal-agar
 - Aktinomykeetit:
Tärkkelys-kaseiini –agar,
Tryptoni-hiivauute-glukoosi
- Kasvatus: homeet 7 vrk,
aktinomykeetit 14 vrk,
lämpötila + 25 °C
- Tunnistaminen:
 - Homeet: itiöiden perusteella sukutasolle
 - Aktinomykeetit: ei tunnisteta,
varmistus rihmamaisen kasvutavan perusteella



Taudinaiheuttajamikrobit

- **Kampylobakteerit**
- Salmonellat
- Legionellat
- Cryptosporium sp.
- Giardia sp.
- **Norovirukset**
- Rotavirukset
- Hepatitis A ...



Patogeenibakteeri-analytiikka

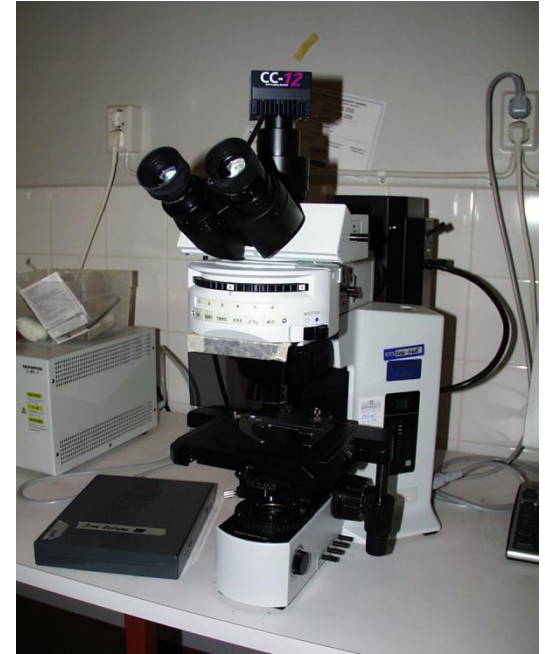
- **Kampylobakteerit:** ISO 17995:2005 standardimenetelmä
 - Inkubointi mikroaerofiilisissa oloissa
 - Analyysin kesto 4 vrk + mahdolliset varmistustestit
 - Riittävä näytetilavuus (esim. 4000 ml)
 - PCR-tekniikat olemassa
- **Salmonellat:** ISO/DIS 19250 Water quality – Determination of Salmonella species
- **Legionellat:** viljelymenetelmä ISO 11731 (1998)
 - Water quality –Detection and enumeration of Legionella
- Water quality — Detection and quantification of Legionella spp. and/or Legionella pneumophila by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) (standardiluonnos v. 2012)



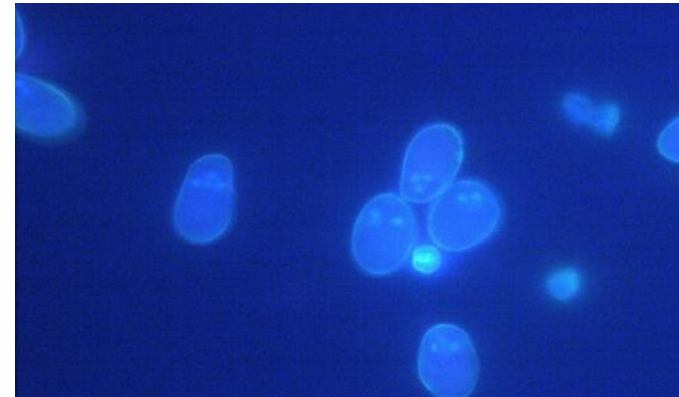
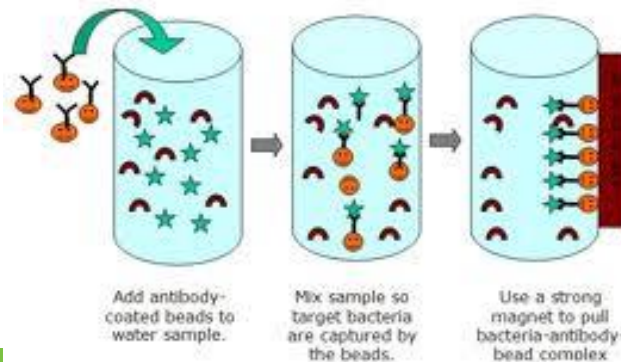
Alkueläinten analysointi vedestä

Standardi ISO 15553:2006

- EPA; Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA
- Veden konsentrointi patruunasuodattimella
 - Suuret näytetilavuudet (10-1000 l) → suodatus paikan päällä
- Eluointi ja eluaatin konsentrointi
- (oo)kystien erotus muista partikkeleista IMS:llä
- (Oo)kystien värjäys (FITC ja DAPI)
 - epifluoresenssi mikroskoopi

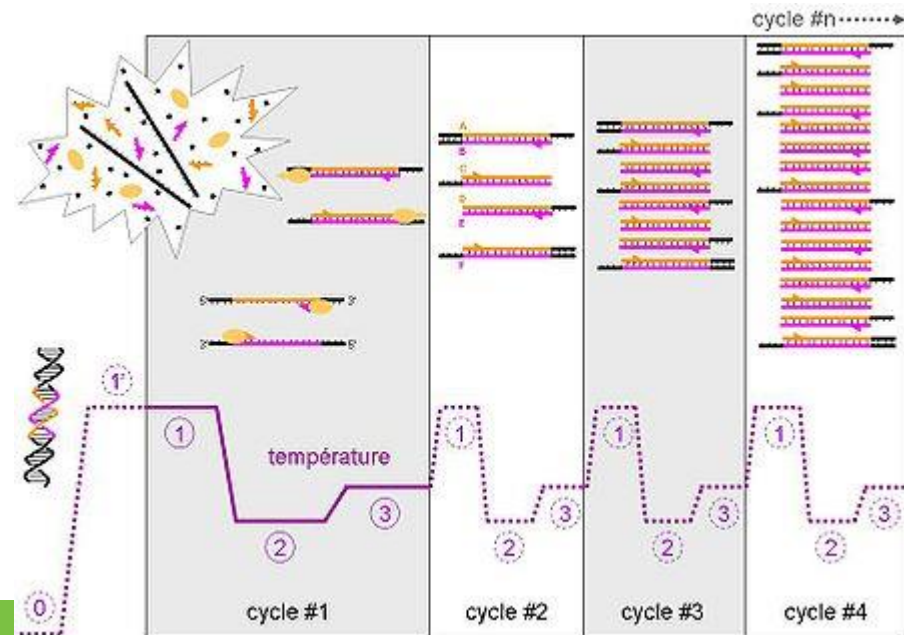


PCR-tunnistustekniikka olemassa



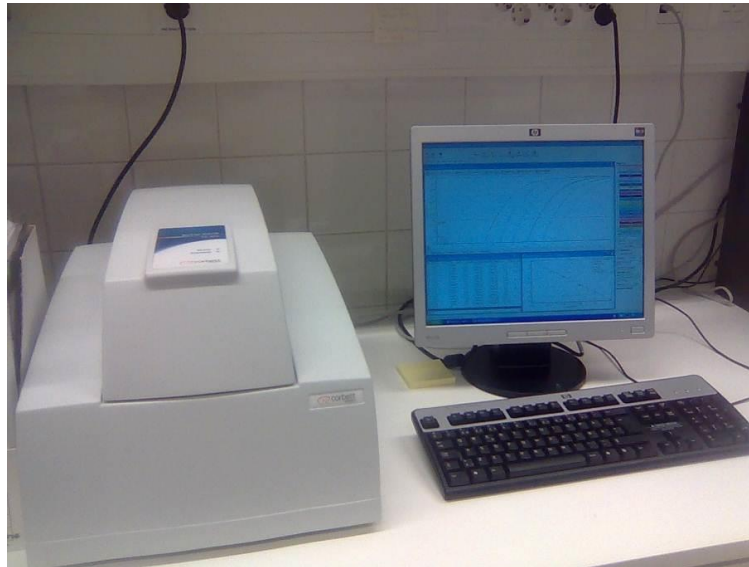
Molekyylibiologiset menetelmät


- Mikrobien viljelymenetelmät: vain osa mikrobeista viljeltäviä
- Molekyylibiologiset menetelmät
 - mikrobit osoitettavissa perimäaineksen (RNA/DNA) avulla
 - Polymerase chain reaction (PCR)
 - Spesifinen mikrobien tunnistus
 - **Mikrobien määrä** voidaan selvittää (qPCR)
 - Haitta: myös kuolleet mikrobit havaitaan



Virusten analysointi vesinäytteestä

- Useimmiten ei viljelytekniikoita
- Konsentraatista eristetään virusgenomi
- Detektio kvantitatiivisella PCR:llä
- Noro-, adeno-, rota-, hepattiivirukset,...



 Analyysin kesto talous- ja uimavesinäytteille 1-2 päivää

TERVEYDEN JA HYVINVOINNIN LAITOS

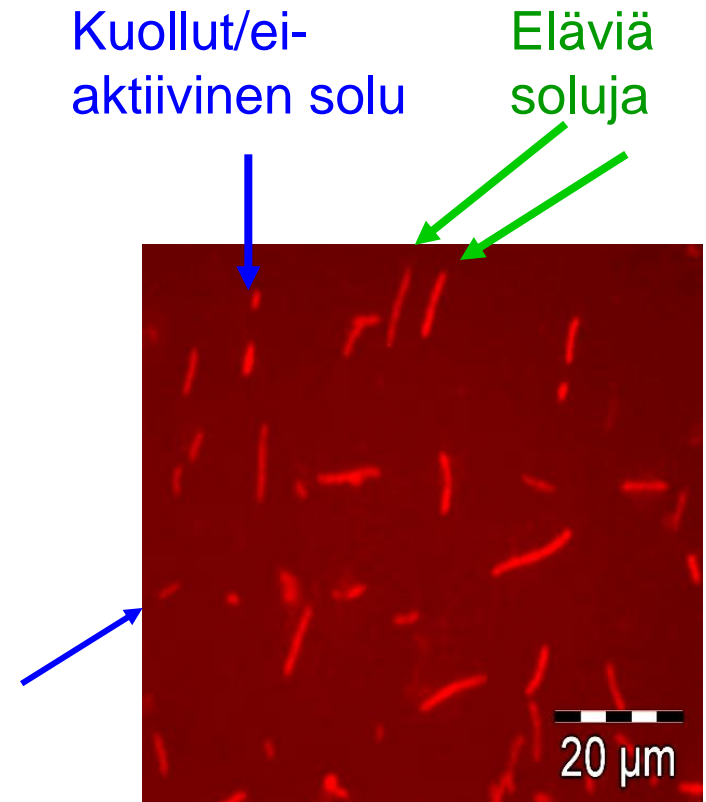
Elävyys: PMA/EMA-qPCR

- Mikrobien altistaminen propidium monoatziidi-molekyylillä → PMA/EMA ei läpäise elävien bakteerien solukalvoa, mutta pystyy kulkeutumaan kuolleiden bakteerisolujen sisälle ja sitoutumaan niiden perimään
- PCR-reaktiossa havaitaan ero elävien ja kuolleiden bakteerien välillä, koska kuolleisiin bakteerisoluihin sitoutunut PMA inhiboi monistumista PCR-reaktiossa



Mikrobien tunnistaminen + elävyys

- PNA-FISH mikroskopointi
 - Mikrobien spesifinen värjäys
 - tunnistus ja laskenta epifluoresenssi-mikroskoopilla
- Direct viable counts (DVC):
 - Antibiootti estää mikrobeja jakaantumasta
 - elävät bakteerit kasvavat pituutta verrattuna kuolleisiin soluihin
 - tunnistus ja laskenta epifluoresenssi-mikroskooppilla



Talousveden laadun valvonta

KEMIAALLISET LAATUVAATIMUKSET

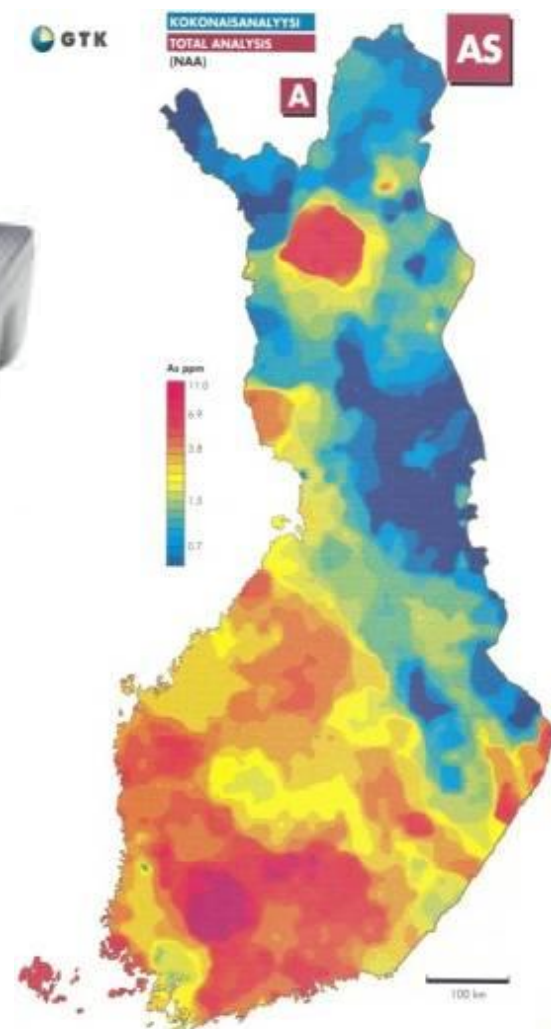
Akryyliamidi	0,10 µg/l	Nitraatti (NO ₃ ⁻)	50 mg/l
Antimoni	5,0 µg/l	Nitraattityppi (NO ₃ -N)	11,0 mg/l
Arseeni	10 µg/l	Nitriitti (NO₂⁻)	0,5 mg/l
Bentseeni	1,0 µg/l	Nitriittityppi (NO ₂ -N)	0,15 mg/l
Bentso(a)pyreeni	0,010 µg/l	Torjunta-aineet	0,10 µg/l
Boori	1,0 mg/l	Torjunta-aineet yhteensä	0,50 µg/l
Bromaatti	10 µg/l	Polysykliset aromaattiset hiilivedyt	0,10 µg/l
Kadmium	5,0 µg/l	Seleeni	10 µg/l
Kromi	50 µg/l	Tetrakloorieteeni ja trikloorieteeni yhteensä	10 µg/l
Kupari	2,0 mg/l	Trihalometaanit yhteensä	100 µg/l
Syanidit	50 µg/l	Vinyylikloridi	0,50 µg/l
1,2-dikloorietaani	3,0 µg/l	Kloorifenolit	10 µg/l
Epikloorihydriini	0,10 µg/l		
Fluoridi	1,5 mg/l		
Lyijy	10 µg/l		
Elohopea	1,0 µg/l		
Nikkeli	20 µg/l		

Pohjavesien ”omia” epäpuhtauksia

- Rauta
- Mangaani
- Fluori, uraani ja arseeni
 - Ym. raskasmetallit

Analytiikka

- Spektrofotometriset menetelmät
 - Pikatestejä joillekin näistä aineista
- AAS- tai ICP-MS-analyysit
 - Tarkemmat analyysit, laaja joukko alkuaineita samalla kertaa



Pintavesien orgaaninen aine (humus)

- Korkeat orgaanisen aineen (humus) pitoisuudet Suomen järvi- ja jokivesissä: 0.5 - 47 mg TOC/l

Haitta: **mutageenisten / karsinogeenisten** orgaanisten yhdisteiden muodostuminen kloorin reagoitessa org.aineen kanssa

- Analytiikka

- Orgaanisen hiilen määrä

- Kemiallinen hapenkulutus (COD), UVabs, veden väri
- Orgaanisen hiilen kokonaismäärä: TOC / DOC

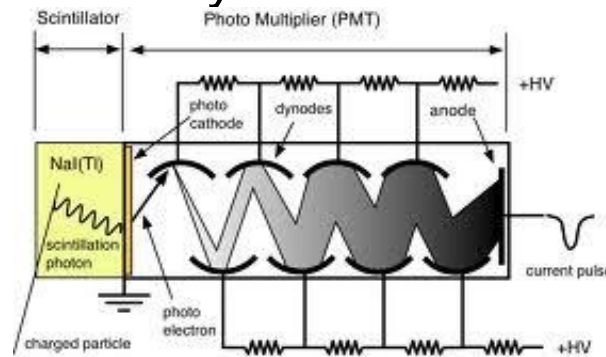
- Desinfioinnin sivutuotteiden analysointi

- Trihalometaanit (THM): Head Space GC-MS
- Halogenoidut etikkahapot (HAAs): uutto-derivatisointi GC-MS / suora injektio LC-MS/MS



Vesien radioaktiivisuus

- Liukeneminen maaperästä ja kalliosta **pohjaveteen**
 - Suurimmat riskit porakaivoissa (**radon**)
- Keinotekoisia radioaktiivisia yhdisteitä vähän Suomen vesistöissä
- **Analytiikka**
 - Gamma-säteily
 - Nal-tuikeilmaisimet
 - Beetta-säteily
 - Nestetuikelaskenta, esim. tritium
 - Alfa-säteily
 - alfaspektrometria
- In-line mittaukset: spesifiset sensorit eri säteilylähteille
 - Prototyyppi-asteella olevat laitteet



Vesien orgaanisia epäpuhtauksia

Maatalouden torjunta-aineet (valumat pelloilta)

- Pitoisuudet Suomessa alhaisia.

Kloorifenolit

- Esim. sahat → imeytyminen pohjaveteen

Haihtuvat klooratut hiilivedyt (VCH-yhdisteet) - teollisuus

Haihtuvat orgaaniset yhdisteet (VOC) esim. MTBE – liikenne

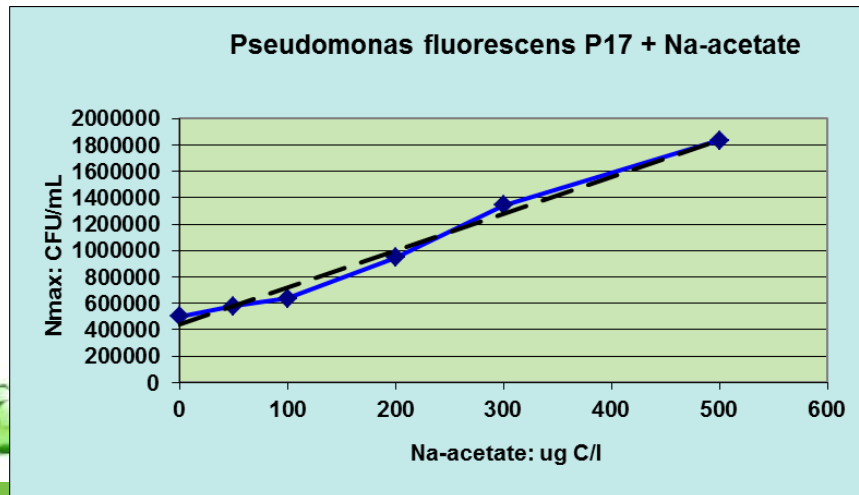
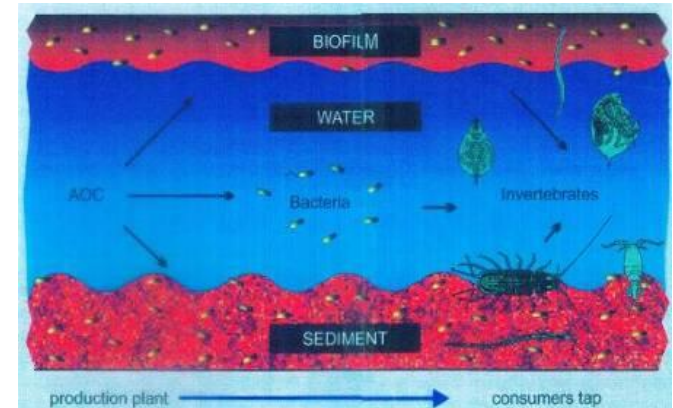
Lääkeaineet: yhdyskuntien jätevedet

Analytiikka

- Polaariset torjunta-aineet ja kloorifenolit suoralla injeksiolla moderneilla LC-MS/MS laitteilla monista vesinäytteistä
 - Jätevedet vaativat uuton ja/tai puhdistuksen ennen LC-MS/MS
- Poolittomat torjunta-aineet: on-line/off-line uutto + GC-MS/MS
- VCH ja VOC yhdisteet HeadSpace GC-MS

Mikrobien kasvu verkostossa

- Lisääntymään kykenevät mikrobit → biofilmien muodostuminen
 - Mikrobien kasvu- ja suojapaikka
- Analytiikka
 - Mikrobeille käyttökelpoiset ravinteet
 - Assimiloituva orgaaninen hiili (AOC)
 - Mikrobeille käyttökelpoinen fosfori (MAP)
 - Biofilmien muodostumispotentiaali



On-line tekniikat:

- Verkstovesiseuranta viidellä vesilaitokselta sekä Nokian vesikriisin näytteistä
 - Mikrobien pesäkeluku korreloi
 - Veden sameuteen
 - Veden absorbanssiin (254 ja 420 nm)
 - Partikkelien lukumäärään



Yhteenveto: Verkoston likaantumisen yhteydessä ei havaita vain mikrobeja, vaan muut epäpuhtaudet (mm. savi, humus,...) → on line- sensorit kykenevät havaitsemaan likaantumisen

Yhteenveto

- Viljelytekniikat
 - Standardimenetelmät indikaattoreille ja useille patogeenisille bakteereille
 - Ei viruksia
 - Still going strong !
- Mikroskopointimenetelmät
 - Mikrobien kokonaislukumäärä
 - Bakt./alkueläinten spesifinen tunnistus mahdollista
- PCR-menetelmät
 - Useille mikrobeille menetelmät
 - Myös virukset
 - Joidenkin bakteerien elävyys voidaan mitata
- On-line- tekniikat
 - Voimakkaasti kehittyvä alue
 - Early warning -signaali