

Maa- ja metsätalousministeriö, Sosiaali- ja terveysministeriö sekä Vesihuoltolaitosten kehittämisrahasto

Alva-yhtiöt Oy (ent. Jyväskylän Energia Oy), Hyvinkään Vesi, Hämeenlinnan Seudun Vesi Oy, Imatran Vesi Oy, Kajaanin Vesi -liikelaitos, Kuopion Vesi Oy (ent. Kuopion Vesi -liikelaitos), Nivos Vesi ja Lämpö Oy, Nokian Vesi Oy, Oulun Vesi liikelaitos, Porvoon vesi ja Turun Vesihuolto Oy

Katri Saukkonen, Jarkko Rapala, Riina Liikanen, Marja-Liisa Puttonen, Marita Honkasalo, Sanna Heinonen, Anu Nikulainen, Markku Piirainen, Markku Lehtola, Kimmo Rintamäki, Päivi Nyysönen, Hanna Matilainen, Jarmo Lahtinen, Elina Antila, Sari Rajajärvi ja Silja Tiitta

VERLA: Verkostotöiden vaikutus suomalaisten talousvesiverkoston veden mikrobiologiseen laatuun

Projektit 127, 128, 130, 172, 173, 174, 175, 184, 187, 225, 227, 229 ja 262/19 Anu Kettunen

Tärkeimmät tulokset

- Jälkidesinfiointitapa vaikutti voimakkaasti veden mikrobiologiaan sekä ennen töitä ja kuukausia töiden päättymisen jälkeen, mutta etenkin töiden aikana ja muutamia viikkoja töiden jälkeen: klooriamiini osoittautui tehokkaammaksi kuin natriumhypokloriitti tai jälkidesinfiointi ilman klooria
- Jälkidesinfiointitavan vaikutusta ei ole mahdollista saada selville viljelymenetelmillä ○ Jälkidesinfiointitavan voimakas vaikutus vaikeutti muiden vaikutusten havaitsemista, mutta verkon kunto heijastui mikrobiologiaan. Erityisesti silloin kun verkosto oli käyttökänsä päässä, veden mikrobiologisessa laadussa nähtiin muutoksia jo ennen verkostotöiden alkua, mutta muutokset korostuivat töiden aikana ja muutamia viikkoja niiden päättymisen jälkeen. Yli kuukauden kuluttua töiden päättymisestä mikrobiologinen laatu oli elävien mikrobien osalta tasaantunut kaikissa verkoissa, joista oli saatu tällainen pidemmän aikajänteen seurantanäyte.
- Verkoston huuhteluilla/pesuilla ei havaittu vaikutuksia veden mikrobiologiseen laatuun.
- On syytä erityisesti korostaa, että mitatut mikrobiologiset muutokset eivät tarkoita, että yhdenkään verkoston kiinni olleen haaran veden laatu olisi poikennut talousveden laatuvaatimuksista tai muodostanut mikrobiologista riskiä.
- ATP-menetelmän havaittiin nopeasti ja luotettavasti mittaavan mikrobiologista yleistilaa ja erityisesti jatkuvatoimisten ATP-mittarien testaaminen on luonteva seuraava askel.

Sisällysluettelo

1 Tausta.....	2
2 Laitokset, työt, näytteet ja mittaukset	3
2.1 Laitokset ja muut rahoittajatahot.....	3
2.2 Työt ja näytteet.....	4
2.3 Näytteiden käsittely ja mittaukset.....	5
2.4 Tulosten tilastollinen käsittely.....	7
3 Tulokset ja tulosten tarkastelu	8
3.1 Jälkidesinfioitavan vaikutukset qPCR-datasta laskettuihin indekseihin	8
3.2 Vesilaitosten töiden qPCR-tulokset ja indeksit	12
3.2.1 Klooriamiinilla jälkidesinfioitujen verkkojen indeksiarvot.....	13
3.2.2 Natriumhypokloriitilla jälkidesinfioitujen verkkojen indeksiarvot	14
3.2.3 Ilman kloorausta jälkidesinfioitujen verkkojen indeksiarvot	15
3.3 ATP-tulokset	17
3.4 Sekvensointitulokset.....	18
4 Johtopäätökset.....	21
5 Viitteet	22

1 Tausta

Sekä Euroopan Unionin direktiivit että useimpien Euroopan maiden kansallinen lainsäädäntö nojaavat ISO-standardoituihin viljelymenetelmiin arvioidessaan talousvesiverkoston veden mikrobiologista laatua (ks. myös WHO 2016). Viljelymenetelmillä saadaankin selville ulosteperäisen kontaminaation riski ja ylipäättään se, onko vesi joutunut kosketuksiin taudinaiheuttajien kanssa ja onko vettä siis turvallista juoda. Viljelymenetelmien käyttökelpoisuutta nopeasti muuttuvissa

tilanteissa kuitenkin heikentää tulosten saamiseen kuluva suhteellisen pitkä aika. Lisäksi kaikkia mikrobiologisia muutoksia ei saada kiinni viljelymenetelmillä (Nappier ym. 2019, Oliver 2005). Verkoston kunnossapitotyöt luovat tyypillisesti tällaisia dynaamisesti muuttuvia tilanteita, joissa viljelystä riippumattomien menetelmien käyttö voi tuoda lisäarvoa antamalla tietoa verkostoveden mikrobiologisesta laadusta.

On syytä ymmärtää, että talousvesiverkoston vesi ei koskaan ole steriiliä, vaan siinä ja toisaalta verkoston seinien biofilmeissä elää monimuotoinen mikrobiyhteisö (Inkinen ym. 2016, 2019). Tässä työssä mitatut mikrobiparametrit kertoivat verkostoveden mikrobiologisen laadun muutoksista, mutta eivät suoraan kerro millaiset mikrobioprofiilit ovat normaaleja ja millaiset poikkeavia. Erityisesti on syytä huomata ero sen välillä, mittaavatko viljelystä riippumattomat menetelmät myös kuolleita vai ainoastaan eläviä (ja siten mahdollisesti vaarallisia) mikrobeja. Tämän raportin tuloksissa on esitetty erikseen mittaus elävistä ja mittaus kuolleista+elävistä. On kuitenkin edelleen syytä korostaa, että viljelystä riippumattomin menetelmin saatuja tuloksia ei voida suoraan verrata viranomaisvaatimusten mukaisten viljelymenetelmien tuloksiin.

Mittavia korjaustöitä tehdään suomalaisissa talousvesiverkostoissa tulevina vuosina, joten on tärkeää tehdä työt niin, että ne aiheuttavat mahdollisimman vähän muutoksia veden mikrobiologisessa laadussa eivätkä missään tapauksessa uhkaa talousveden laatua. 11 vesilaitoksen ja Teollisuuden Veden yhteinen VERLA-hanke, jota ovat rahoittaneet myös Maa- ja metsätalousministeriö, Sosiaali- ja terveysministeriö ja Vesihuoltolaitosten kehittämisrahasto, tarkastelee erilaisten verkostotöiden vaikutuksia verkostoveden mikrobiologiseen laatuun käyttäen viljelystä riippumattomia mikrobiologisia menetelmiä, toisaalta ATP-menetelmää (Whalen ym. 2019) ja toisaalta DNA-pohjaista kuolleiden+elävien sekä elävien qPCR-analyysiiä ja NGS-analyysiiä, kuten useat talousvesiverkkojen viimeaikaiset tutkimukset Ahmad ym. 2020, Ashbolt 2015, Aw ja Rose 2012, Brumfield ym. 2020, Buse ym. 2014, GomezAlvarez 2012, Inkinen ym. 2016, 2019, Lin ym. 2014, Liu ym. 2014, Nappier ym. 2019, Pinel ym. 2020, Revetta ym. 2013, Zhou ym. 2020).

2 Laitokset, työt, näytteet ja mittaukset

2.1 Laitokset ja muut rahoittajat

VERLA-hankkeessa oli mukana 11 suomalaista vesilaitosta:

- Alva, aiemmin Jyväskylän Energia
- HS-Vesi
- Hyvinkään Vesi
- Imatran Vesi

- Kajaanin Vesi
- Kuopion Vesi
- Nivos Vesi
- Nokian Vesi
- Oulun Vesi
- Porvoon vesi
- Turun Vesihuolto

Lisäksi hanketta rahoittivat Maa- ja metsätalousministeriö, Sosiaali- ja terveysministeriö ja Vesihuoltolaitosten kehittämisrahasto sekä Teollisuuden Vesi.

Tässä raportissa käytetään osallistuvista vesilaitoksista kirjainnumerokoodeja V01-V11 datan luottamuksellisen luonteen vuoksi. Vesilaitosten raakaveden lähteet ja vedenkäsittelyn karkea kuvaus on esitetty Taulukossa 1.

2.2 Työt ja näytteet

Hankkeeseen valittiin otos niistä verkostotöistä, joita mukanaolevat vesilaitokset joka tapauksessa tekivät vuosina 2018-2020. Hankkeeseen kuului 15 verkostosaneerauskohdetta 9 vesilaitokselta (V01, V02, V03, V04, V05, V06, V09, V10 ja V11) ja lisäksi 3 vesilaitokselta (V05, V07 ja V08) saatiin näytteitä verkoston huuhteluista ja/tai vesitornien tai säiliöiden pesuista (Taulukko 1). Kustakin verkostotyöstä kerättiin näytteitä aikasarjana ennen työn aloittamista, työn aikana ja työn valmistumisen jälkeen. Vesilaitosten V01 ja V02 verkostotyöt olivat käynnissä hankkeen alkaessa, joten niistä ei saatu 'Ennen'-näytteitä. Vesilaitosten V09 ja V10 verkostotyöt olivat kesken kesäkuussa 2020, jolloin näytteiden kerääminen päättyi, joten niistä ei saatu 'Jälkeen'-näytettä. Kaikkiaan hankkeessa kerättiin 114 näytettä kahtena rinnakkaisena. Näytepisteiden koodit vastaavat vesilaitoksen koodia niin, että esimerkiksi vesilaitoksen V01 työstä T1 on näytepisteet 1A, 1P (paloposti), 1C ja 1D ja vesilaitoksen V05 työstä T1 näytepisteet 5A ja 5P (paloposti) ja työstä T5 näytepiste 5E. Kustakin näytteestä tehtiin qPCR-analyysit (ks. Luku 2.3) sekä 'Kuolleet+elävät'-näytteille että 'Elävät'-näytteille, joten qPCR-mittauspisteitä oli 456 kappaletta.

Näytteenottopisteiden yksityiskohtaiset tiedot on esitetty vesilaitoskohtaisesti tämän raportin luottamuksellisissa liitteissä "Vesilaitoksen VXX luottamukselliset tiedot ja kuvat", missä XX = 01-11.

Taulukko 1. Vesilaitosten vedenkäsittely ja verkostotyöt. Vesilaitokset on järjestetty jälkidesinfiointitavan perusteella.

Vesilaitos	Raakavesi	Vedenkäsittely	pH:n säätö	Jälkidesinfiointi	Verkostotyöt
------------	-----------	----------------	------------	-------------------	--------------

V04	Pohjavesi		Kalkkikivisuodatus	UV+otsonointi+klooriamiini	T1 Uusi putki ja T2 Uusi putki
V11	Tekopohjavesi		Kalkkikivisuodatus	UV+klooriamiini	T1 Uusi putki ja T2 Sujutus
V03	Tekopohjavesi	Ilmastus ja hiekkasuodatus	Kalkkikivisuodatus	UV+klooriamiini	T1 Uusi putki ja T3 Uusi putki
V05	Pintavesi	Saostus, hiekka- ja aktiivihiekkisuodatus	Jauhemainen kalkki	UV+klooriamiini	T1 Uusi putki, P3 Vesisäiliön pesu, T4 Uusi putki ja T5 Uusi putki
V08	Pohjavesi ja tekopohjavesi	Ilmastus ja hiekkasuodatus	Lipeä	Natriumhypokloriitti	P1 Vesitornin pesu
V07	Tekopohjavesi	Ilmastus ja hiekkasuodatus	Sammutettu kalkki	Natriumhypokloriitti	H1 Verkoston huuhtelu, H2 Verkoston huuhtelu ja P3 Vesitornin pesu
V01	Pohjavesi ja tekopohjavesi	Ilmastus ja aktiivihiekkisuodatus	Kalkkikivisuodatus	UV+natriumhypokloriitti	T1 Uusi putki
V06	Pohjavesi		Kalkkikivisuodatus	UV	T1 Sujutus
V02	Pohjavesi	Ilmastus	Kalkkikivisuodatus	UV	T1 Uusi putki ja T2 Uusi putki
V09	Pohjavesi	Ilmastus ja hiekkasuodatus	Ei pH:n säätöä	UV (myös vesitorneilla)	T1 Uusi putki
V10	Pohjavesi ja tekopohjavesi	Ilmastus ja hiekkasuodatus	Jauhemainen kalkki / lipeä	UV (myös vesitorneilla)	T1 Aluesaneeraus

2.3 Näytteiden käsittely ja mittaukset

Kukin vesilaitos keräsi omat näytteensä ja lähetti ne Teollisuuden Veden laboratorioon, jossa näytteet suodatettiin. 'Elävät'-näytteet käsiteltiin ennen suodatusta propidiummonoatsidilla, jolloin kuolleista soluista ei synny qPCR-signaalia (Chiao ym. 2014).

Teollisuuden Veden laborantit eristivät näytteiden mikrobi-DNA:n käyttäen Teollisuuden Veden omaa protokollaa, johon kuuluu DNA:n eristys fenoli-kloroformilla ja saostus natriumasetaatti-isopropanolilla (oleellisesti kuten kuvattu julkaisussa Rinttilä ym. 2011).

Näytteiden DNA:sta määritettiin qPCR-menetelmällä bakteerien ja aitotumallisten sekä sienten ja hiivojen kokonaispitoisuuksia sekä sellaisia bakteereita tai bakteeriryhmiä, jotka kuvaavat muutoksia veden mikrobiologisessa laadussa (esimerkiksi *E.coli* ja Klostridiklusteri I) ja toisaalta sellaisia, jotka kertovat biofilmien liikkeistä (on mitattu biofilmeissä eläviä hapettomia oloja vaativia bakteereita, jotka eivät talousvesiverkoston verraten hapellisissa oloissa menesty muualla kuin biofilmeissä).

Kaiken kaikkiaan DNA:sta mitattiin kvantitatiivista polymeerasiketjureaktiota (qPCR), SYBR Green -kemialla ja Teollisuuden Veden alukkeita käyttäen

- Kokonaisbakteerit = kaikki bakteerit mahdollisimman laajasti ns. bakteerien yleisalukkeilla
- Kokonaisaitotumalliset = kaikki tumalliset solut mahdollisimman laajasti ns. aitotumallisten yleisalukkeilla
- Kokonaissienet = kaikki homeet ja hiivat mahdollisimman laajasti ns. sienten yleisalukkeilla
- Enterobakteerit = heimon *Enterobacteriaceae* edustajat
- E.coli = lajia *E.coli* edustavat kannat
- Legionellat = suvun *Legionella* edustajat
- ihmiselle vaarallisimmat legionellat = bakteerit, joiden perimässä esiintyy *L.pneumophila* MIP-virulenssigeeni
- Enterokokit = heimon *Enterococcaceae* edustajat
- Klostridiklusteri I = suvun *Clostridium sensu stricto* edustajat (läheistä sukua lajeille *Cl. botulinum*, *Cl. perfringens* ja *Cl. tetani*)
- Klostridiklusteri XIV = Suoliston valtaryhmä 1, ennen kaikkea heimon *Lachnospiraceae* edustajat (lähellä sukujen *Roseburia*, *Dorea*, *Butyrivibrio* ja *Blautia* lajeja)
- Klostridiklusteri IV = Suoliston valtaryhmä 2, ennen kaikkea heimon *Ruminococcaceae* edustajat (läheistä sukua lajeille *Clostridium leptum* ja *Faecalibacterium prausnitzii*)
- Sulfaatinpelkistäjät = Bakteerit, joiden perimästä löytyy jompikumpi tai molemmat sulfaatinpelkistykseen liittyvistä funktionaalisista geeneistä, joita sulfaatinpelkistäjien qPCR-määritykset mittaavat

qPCR-mittauksien geenikopiot/ml muunnettiin soluiksi/ml käyttäen kunkin ryhmän solujen keskimääräistä ribosomaalisten geenien kopiolukua sivuston <https://rrndb.umms.med.umich.edu/search/> mukaan (3 kokonaisbakteereille ja 50 kokonaisaitotumallisille ja kokonaissienille).

qPCR-mittausten tuloksin helpottamiseksi niistä laskettiin kaksi indeksiä, biofilmiindeksi ja bakteeri-indeksi. Biofilmi-indeksi laskettiin 3 anaerobiryhmän, nimittäin Klostridiklusterien IV ja XIV sekä sulfaatinpelkistäjien mittauksista perustuen siihen ajatukseen, että ehdottomat anaerobit eli hapettomia olosuhteita vaativat bakteerit eivät voi menestyä talousvesiverkostossa muualla kuin biofilmeissä. Näin niiden esiintyminen vedessä merkitsee, että biofilmit ovat irronneet verkoston seinästä ja lähteneet liikkeelle veden mukana. Bakteeri-indeksi, jolla on yhteys verkostoveden mikrobiologiseen laatuun, laskettiin kokonaisbakteerien, enterobakteerien, *E.colin*, legionellojen, ihmiselle vaarallisimpien legionellojen, enterokokkien ja klostridiklusterin I tuloksista. Indeksit laskettiin loglineaarisesti niin että kunkin määrityksen osalta mittaus, joka ylsi tässä mittausjoukossa maksimaaliseen

tasoon, kasvatti indeksin arvoa luvulla 1,00, mittaus, joka ylitti kymmenesosan maksimaalisesta tasosta, kasvatti indeksin arvoa luvulla 0,75, mittaus, joka ylitti sadamosan maksimaalisesta, kasvatti indeksin arvoa luvulla 0,50 ja mittaus, joka ylitti kvantifiointirajan eli josta saatiin numeerinen tulos, kasvatti indeksin arvoa luvulla 0,25. Osasta määrittämiä (ihmisille vaarallisimmat legionelat, *E.coli*, enterokokit, klostridiklusterit I, IV ja XIV sekä sulfaatinpelkistäjät) ei saatu kvantifiointirajan ylittävää numeerista tulosta kuin yksittäisistä mittauksista ja näiden määritysten kohdalla '+'-tuloksesta eli määritysrajan ylittävistä, mutta kvantifiointirajan alittavasta tuloksesta, kasvatettiin indeksin arvoa luvulla 0,50.

Neljän valikoidun näytepisteen (vesilaitoksen V09 T1 'Ennen'-näytteet 9B+9A ja 'Aikana'-näytteet 9B+9A sekä vesilaitoksen V05 T3 'Ennen'-näyte 5V ja 'Aikana'-näyte 5V) näytteet lähetettiin Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitokselle DNA-pohjaisiin alkueläin- ja bakteerianalyysiin sekä Tampereen yliopiston Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekuntaan virusanalyysiin. Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitoksella näytteiden nukleiinihappoista määritettiin *Legionella* spp., *E. coli*, *Mycobacterium* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., yleistä suolistoperäistä saastumista kuvaavan *Bacteroidales* (GenBac3) ja ihmisestä saastumista kuvaavan *Bacteroidales* (HF183) geenimarkkerien esiintyminen näytteissä (tarkemmin tämän raportin liitteenä olevassa THL:n luottamuksellisessa raportissa), näytteistä V09 T1 'Ennen' 9A ja V09 T1 'Aikana' 9A kuitenkin vain *E.coli* ja *Legionella* spp. Tampereen yliopistossa määritettiin nukleiinihappoista adenovirus, adenovirus (40 ja 41), rhinovirus, norovirus (G1), norovirus (G2), rotavirus, enterovirus, sapovirus, parechovirus ja reovirus.

Bakteerien 16S rRNA-geenin seuraavan sukupolven sekvensointia (Next Generation Sequencing) yritettiin 44 kuolleiden+elävien ja 44 elävien näytteistä, joissa kuolleiden+elävien kokonaisbakteerien taso ylitti 5×10^3 solua/ml. Sekvensointi onnistui 42 kuolleiden+elävien bakteerien näytteistä ja 33 elävien bakteerien näytteestä.

Adenosiinitrifosfaattitasot (ATP) mitattiin joko paikan päällä tai näytteiden saavuttua Teollisuuden Veden laboratorioon. Mittauksessa käytettiin valoon perustuvaa mittausta ja Luminultran ATP-photonmetrilaitetta sekä makean veden QCA-kittejä.

2.4 Tulosten tilastollinen käsittely

Seuraavien tekijöiden vaikutusta kokonaisbakteereihin ja bakteeri- ja biofilmiindekseihin tarkasteltiin

- Raakavesi: pohjavesi vs. tekopohjavesi vs. pintavesi
- Vedenkäsittely: ilmastus, hiekkasuodatus ja aktiivihiekkasuodatus
- pH:n säätö: Kalkkikivisuodatus vs. kalkki vs. lipeä
- Desinfointi: UV ja otsonointi

- Jälkidesinfiointi: klooriamiini vs. natriumhypokloriitti vs. ei jatkuvaa kloorausta
- Verkoston ikä verkostotyön alkaessa: käyttöikänsä päässä vs. käyttöikää jäljellä
- Verkoston kunto verkostotyön alkaessa: oliko havaittu vuotoja ja putkirikkoja
- Paineet, ilmanpoisto, paineenkorotus, pussutus ja shokkiklooraus verkon käyttöönotossa

Tilastollista merkitsevyyttä tutkittiin pääosin Studentin t-testillä riskitasolla $\alpha = 0.95$.

Jälkidesinfiointitavan vaikutus oli niin voimakas, että se käytännössä peitti alleen suurimman osan muista vaikutuksista. Lisäksi tilastollista tarkastelua vaikeutti se, että monien muuttujien osalta vain yksi tai kaksi näytesarjaa poikkesi kaikista muista mittauksista, jolloin satunnaisten tekijöiden merkitys kasvaa. Esimerkki tällaisesta tilanteesta on raakaveden lähde: vain vesilaitoksella V05 oli käytössä pintavesi merkittävänä lähteenä, jolloin ei ole mahdollista erottaa pintaveden mahdollisia vaikutuksia muista sellaisista vaikutuksista, joiden osalta vesilaitos V05 poikkesi muista vesilaitoksista. Lisäksi muuttujien kollineaarisuus vaikeutti tilastollista vertailua.

VERLA-hankkeen mittauksia vertailtiin myös Teollisuuden Veden tausta-aineistoon, jossa on mitattu eri vuodenaikoina kerättyjä näytteitä 4 talousvesiverkosta (Helsinki ja Espoo, jotka edustavat HSY:n verkon eri kohtia sekä Vihti ja Mäntsälä), 4 talousvesikäytössä olleesta kaivosta ja 4 luonnonvedestä. Indeksien väriajat (bakteeri-indeksille: vihreä kun ≤ 2 , keltainen välillä 2-3, oranssi välillä 3-4 ja punainen kun ≥ 4 ja biofilmi-indeksille vihreä kun $\leq 1,25$, keltainen välillä 1,50-2,00, oranssi välillä 2,00-2,50 ja punainen kun $\geq 2,75$) määritettiin alun perin siitä lähtökohdasta, että silloin kun keskimäärin puolet indeksin laskennassa käytetyistä qPCR-tuloksista antoi maksimi-arvon, indeksin värikoodi muuttui oranssiksi. Vihreän ja keltaisen raja määräytyi sillä perusteella, että tausta-aineiston talousvesiverkostojen näytteet lähes poikkeuksetta pysyivät vihreän rajan sisällä.

3 Tulokset ja tulosten tarkastelu

3.1 Jälkidesinfiointitavan vaikutukset qPCR-datasta laskettuihin indekseihin

Tämän raportin loppuun vaakasuntaan sijoitetuissa Kuvissa 1-4 on esitetty kokonaisbakteerit sekä lasketut kaksi indeksiä ennen verkostotöiden aloittamista (Kuva 1), töiden aikana (Kuva 2), alle kuukauden kuluessa verkostotöiden päättymisestä alueella (Kuva 3) ja yli kuukauden jälkeen verkostotöiden päättymisestä alueella (Kuva 4). Vesilaitosten työt on Kuvissa 1-4 järjestetty jälkidesinfiointitavan mukaan. Taulukkoon 2a-b on samoin jälkidesinfiointitavan mukaan järjestettynä koottu toisaalta tausta-aineiston tasolla pysyneet kuolleiden+elävien ja elävien bakteerien indeksiarvot (bakteeri-indeksi < 3 ja biofilmi-indeksi < 2 , jotka Kuvissa 1-5 on esitetty vihreällä/keltaisella värillä) ja toisaalta tausta-aineistoon nähden kohonneet

kuolleiden+elävien ja elävien bakteerien indeksi-arvot (bakteeri-indeksi ≥ 3 ja biofilmi-indeksi ≥ 2 , jotka Kuvissa 1-5 on esitetty oranssilla/punaisella värillä) ennen töitä, töiden aikana, alle kuukausi töiden päättymisen jälkeen ja yli kuukausi töiden päättymisen jälkeen.

Kun tarkastellaan näytteiden jakautumista töiden suhteen, on syytä huomata, että Kuvassa 1A tähdellä merkitty vesilaitoksen V05 työn T1 'Ennen'-näyte 5A ei tarkkaan ottaen edusta tilannetta ennen verkostotyön alkua, koska kiinteistön 5A lähelle oli lisätty uusi vesiposti 5 m pituisella PEH-putkella, mistä syystä tätä näytettä ei ole laskettu Taulukon 2 'Ennen'-näytteisiin. Kuvassa 2a tähdellä merkitty vesilaitoksen V06 T1 'Aikana'-näyte 2B puolestaan oli otettu väliaikaisesta vedenjakelestä eikä niin muodoin kuvasta verkoston vettä työn aikana, joten sitä ei ole laskettu mukaan Taulukon 2 'Aikana'-näytteisiin. –Kuvassa 2b vesilaitoksen V10 työn T1 tähdellä merkityt 'Jälkeen'-näytteet, jotka otettiin töiden päätyttyä kiinteistön 10A kohdalla, on puolestaan esitetty Kuvassa 2b eli "Aikana"-näytteinä ja laskettu Taulukossa 2 "Aikana"-näytteisiin, koska verkostosaneeraus jatkui kiinteistöä 10A ympäröivällä alueella koko kevään 2020. Neljäs huomio liittyy Kuvassa 3a vesilaitoksen V03 työn T1 tähdellä merkittyihin näytteisiin 3A ja 3D, jotka oli otettu puolitoista kuukautta sen jälkeen, kun verkostotyöt olivat päättyneet kiinteistön 3A kohdalla. Nämä näytteet on kuitenkin esitetty Kuvassa 3a "≤1 kk jälkeen"-näytteinä ja laskettu Taulukossa 2 "≤1 kk jälkeen"-näytteisiin, koska lähelle kiinteistöä 3A oli muutama päivä ennen näytteenottoa liitetty uusi haara, minkä vaikutukset näkyvätkin indeksien arvoissa.

Taulukko 2. Tausta-aineiston tasolla pysyneet ja toisaalta tausta-aineistoon nähden kohonneet indeksi-arvot a) kuolleiden+elävien ja b) elävien bakteerien näytteistä järjestettynä desinfiointitavan mukaan. On syytä huomata, että prosenttiosuuksumma ylittää 100 % silloin kun näytteessä on sekä biofilmi-indeksi että bakteeri-indeksi koholla.

Taulukko 2.a Kuolleet ja elävät	Klooriamiini (V04, V11, V03 ja V05)			Natriumhypokloriitti (V08, V07 ja V01)			Ei kloorausta (V06, V02, V09 ja V10)		
	Taustaaineiston tasolla	Biofilmiindeksi koholla	Bakteeriindeksi koholla	Taustaaineiston tasolla	Biofilmiindeksi koholla	Bakteeriindeksi koholla	Taustaaineiston tasolla	Biofilmiindeksi koholla	Bakteeriindeksi koholla
Ennen töitä	18/20 90 %	2/20 10 %	2/20 10 %	6/10 60 %	3/10 30 %	4/10 40 %	2/6 33 %	4/6 67 %	4/6 67 %
Töiden aikana	6/7 86 %	1/7 14 %	1/7 14 %	2/5 40 %	2/5 40 %	2/5 40 %	3/17 18 %	9/17 53 %	12/17 71 %
≤1 kk jälkeen	9/10 90 %	1/10 10 %	1/10 10 %	6/6 100 %	0/6 0 %	0/6 0 %	2/6 33 %	3/6 50 %	4/6 67 %
>1 kk jälkeen	10/10 100 %	0/10 0 %	0/10 0 %	2/4 50 %	0/4 0 %	2/4 50 %	4/4 100 %	0/4 0 %	0/4 0 %
Taulukko 2.b Elävät	Klooriamiini (V04, V11, V03 ja V05)			Natriumhypokloriitti (V08, V07 ja V01)			Ei kloorausta (V06, V02, V09 ja V10)		

Mikrobiol. laatu	Taustaa- ineis- ton tasolla	Biofilmiind eksi koholla	Bakteeriinde ksi koholla	Taustaa- ineis- ton tasolla	Biofilmiind eksi koholla	Bakteeriind eksi koholla	Taustaa- ineis- ton tasolla	Biofilmiind eksi koholla	Bakteeriind eksi koholla
Ennen töitä	20/20 100 %	0/20 0 %	0/20 0 %	10/10 100 %	0/10 0 %	0/10 0 %	5/6 83 %	1/6 17 %	1/6 17 %
Töiden aikana	7/7 100 %	0/7 0 %	0/7 0 %	4/5 80 %	0/5 0 %	1/5 20 %	9/17 53 %	4/17 24 %	6/17 35 %
≤1 kk jälkeen	10/10 100 %	0/10 0 %	0/10 0 %	6/6 100 %	0/6 0 %	0/6 0 %	5/6 83 %	0/6 0 %	1/6 17 %
>1 kk jälkeen	10/10 100 %	0/10 0 %	0/10 0 %	4/4 100 %	0/4 0 %	0/4 0 %	4/4 100 %	0/4 0 %	0/4 0 %

Silloin kun jälkidesinfioinnissa käytettiin klooriamiinia, yksikään elävien bakteerien indeksi ei ollut koholla tausta-aineistoon verrattuna (Taulukko 2b) eli 100 prosenttia indeksiarvoista pysyi tausta-aineiston tasolla ja on esitettyä joko vihreällä tai keltaisella värillä Kuvissa 1-4. Natriumhypokloriittia käytettäessä töiden aikana

yhdessä elävien näytteessä (vesilaitoksen V07 verkostohuuhtelun H1 palopostinäyte 7P) bakteeri-indeksi oli koholla (Taulukko 2b ja Kuvat 1-4). Sen sijaan silloin kun jälkidesinfioinnissa ei käytetty kloorausta ollenkaan, biofilmi-indeksi oli koholla yhdessä näytepisteessä ennen töitä (vesilaitoksen V10 aluesaneerauksen T1 näyte 10A) ja neljässä näytteessä töiden aikana (vesilaitoksen V09 työn T1 näytteet 9A ja 9B ja 9B kuuden kuukauden kohdalla sekä vesilaitoksen V10 työn T1 kuuden kuukauden näyte 10A). Vesilaitos V09 edusti jo kohdetta valittaessa sellaista verkoston osaa, joiden virtausten tiedettiin olevan matalat verkon normaalikäytössä ja jossa siksi arveltiin sakkujen työn aikana liikkuvan, joten tulokset ovat tältä osin linjassa ennakkoodotusten kanssa. Elävien bakteeri-indeksi oli klooraamattomien verkkojen osalta vastaavasti koholla yhdessä näytteessä ennen töitä (vesilaitoksen V10 aluesaneerauksen T1 näyte 10A) ja kuudessa näytteessä töiden aikana (vesilaitoksen V02 työn T2 näyte 2D, vesilaitoksen V09 työn T1 kuuden kuukauden näytteet 9A ja 9B ja 9A sekä vesilaitoksen V10 työn T1 neljän ja kuuden viikon näytteet 10A). Silloin kun verkostotöiden päättymisestä kohteen lähiympäristössä oli kulunut yli kuukausi, tilanne oli elävien bakteerien osalta rauhoittunut kaikissa hankkeessa mitatuissa verkostonäytteissä jälkidesinfiointitavasta riippumatta. Tältä osin tosin täytyy todeta, että yli kuukausi töiden päättymisen jälkeen otettuja näytteitä varsinkin natriumhypokloriitilla ja ilman klooria jälkidesinfioituista verkoista oli vain muutama.

Biofilmi-indeksi lasketaan aidosti hapettomia oloja kasvuunsa ja hengissäpysymiseensä vaativista bakteeriryhmistä, joten ei ole yllättävää, että kuolleiden+elävien biofilmi-indeksit olivat useammin koholla kuin elävien biofilmiindeksit. Tämä siis tarkoittaa, että biofilmien bakteerit olivat näytteissä enimmäkseen kuolleita, todennäköisesti kuolleet pian sen jälkeen, kun biofilmi on irronnut verkon seinämästä hapelliseen verkstoveteen. Kuolleiden+elävien biofilmi-indeksit olivat joissakin tapauksissa (vesilaitosten V03 työn T3 näytepisteessä 3I ja V05 työn T2 näytepisteessä 5C ennen työn alkamista, vesilaitoksen V05 työn T1 näytepisteessä 5A työn aikana sekä vesilaitoksen V03 työn T1 näytepisteessä 3D muutama päivä sen jälkeen kun näytepisteen lähelle oli kiinnitetty uusi haara) koholla myös klooriamiinilla jälkidesinfioituissa verkoissa, mutta natriumhypokloriitilla klooratuissa verkoissa osuus oli suurempi ennen töitä ja töiden aikana. Verkoissa, joiden jälkidesinfioinnissa ei käytetty klooria, biofilmi-indeksi oli koholla yli 50% näytteistä ennen töitä, töiden aikana ja muutama viikko töiden jälkeen. Yli kuukausi alueen töiden päättymisen jälkeen otetuissa näytteissä biofilmi-indeksi ei ollut koholla yhdessäkään tässä hankkeessa mitatussa näytteessä jälkidesinfiointitavasta riippumatta, mikä myös heijastaa tilanteen rauhoittumista.

Kuolleiden+elävien bakteeri-indeksi käyttäytyi yleisesti ottaen oleellisesti samalla tavalla kuin kuolleiden+elävien biofilmi-indeksi ja nousi koholle useimmiten samoissa näytepisteissä kuin biofilmi-indeksi ollen koholla joissakin yksittäisissä näytteissä klooriamiinilla jälkidesinfioituissa verkoissa ennen työtä, työn aikana ja muutamia viikkoja työn päättymisen jälkeen, selvästi useammin koholla natriumhypokloriitilla jälkidesinfioituissa näytteissä ja koholla yli 50 % näytteistä verkoissa, joiden

jälkidesinfiointissa ei käytetä kloorausta. Ainoa poikkeus tähän samanlaiseen käyttäytymiseen olivat yli kuukauden kuluttua verkostotöiden päättymisen jälkeen otetut näytteet, joissa kuolleiden+elävien bakteeri-indeksi oli koholla kahdessa näytepisteessä (vesilaitosten V07 huuhtelun H2 neljän kuukauden näytteessä ja V01 työn T1 neljän kuukauden näytteessä) siinä, missä biofilmi-indeksi oli kaikissa mitatuissa näytepisteissä tausta-aineiston tasolla.

Sen lisäksi että biofilmi- ja bakteeri-indeksit olivat useammin koholla natriumhypokloriitilla jälkidesinfioiduissa verkoissa ja erityisesti silloin kun jälkidesinfiointissa ei käytetty jälkidesinfiointissa verrattuna klooriamiinilla jälkidesinfiointeihin verkkoihin, myös indeksien tasoissa oli eroja: bakteeri-indeksi oli keskimäärin 1,45 klooriamiinilla desinfioiduissa verkoissa vs. 2,75 silloin kun klooria ei käytetty jälkidesinfiointissa ennen töitä ($p<0.0001$) ja biofilmi-indeksi vastaavasti 0,44 vs. 1,08 ($p<0.0001$). Töiden aikana, alle kuukausi töiden päättymisen jälkeen ja yli kuukausi töiden päättymisen jälkeen vastaavat bakteeri-indeksit olivat 1,43 vs. 2,55 ($p<0.01$), 1,73 vs. 2,29 ($p>0.05$) ja 1,00 vs. 1,56 ($p<0.05$) ja biofilmi-indeksit 0,23 vs. 1,04 ($p<0.01$), 0,28 vs. 1,06 ($p<0.01$) ja 0,29 vs. 0,56 ($p>0.05$). Indeksien ero natriumhypokloriitilla ja klooriamiinilla jälkidesinfiointujen verkkojen välillä ei useimmiten ollut merkitsevä, mutta yli yhden kuukauden kuluttua töiden päättymisestä alueekka bakteeri-indeksi oli korkeampi natriumhypokloriitilla jälkidesinfioiduissa verkoissa (1,00 vs. 2,22, $p<0.0001$). Natriumhypokloriitilla jälkidesinfioidut verkot eivät myöskään eronneet yhtä paljon ilman klooria jälkidesinfioiduista verkoista kuin klooriamiinilla jälkidesinfioidut verkot. Bakteeri-indeksi oli kuitenkin matalampi natriumhypokloriitilla jälkidesinfioiduissa verkoissa kuin ilman klooria jälkidesinfioiduissa verkoissa ennen töitä (1,70 vs. 2,75, $p<0.05$) ja alle kuukausi töiden jälkeen (1,52 vs. 2,29, $p<0.05$) ja korkeampi yli kuukausi töiden päättymisen jälkeen (2,22 vs. 1,56, $p<0.05$). Alle kuukausi töiden päättymisen jälkeen myös biofilmi-indeksi oli matalampi natriumhypokloriitilla jälkidesinfioiduissa verkoissa kuin ilman klooria jälkidesinfioiduissa verkoissa (0,35 vs. 1,06, $p<0.05$).

3.2 Vesilaitosten töiden qPCR-tulokset ja indeksit

Edellisessä alaluvussa 3.1 aineistoa tarkasteltiin niputtamalla yhteen kaikki klooriamiinilla jälkidesinfiointujen verkkojen V04, V11, V03 ja V05 näytteet, natriumhypokloriitilla jälkidesinfiointujen verkkojen V08, V07 ja V01 näytteet ja ilman kloorausta jälkidesinfiointujen verkkojen V06, V02, V09 ja V10 näytteet. Tässä alaluvussa tarkastellaan pääpiirteissään kunkin verkon töiden kokonaisbakteereita ja indeksejä vielä yksitellen aikasarjana (Kuvat 5.1-5.11).

3.2.1 Klooriamiinilla jälkidesinfioidujen verkkojen indeksiarvot

Klooriamiinilla jälkidesinfioidun vesilaitoksen V04 näytteiden indeksit pysyvät taustaaineiston tasolla sekä ennen töitä, töiden aikana että töiden jälkeen (Kuva 5.1). Vesilaitoksen V04 työn T2 korkeammat kokonaisbakteeritasot kuitenkin määritettiin sellaisesta verkoston osasta, jossa veden viipymän tiedettiin olevan pidempi ja jossa oli havaittu putkirikkoja. Vaikka tämä pari jääkin yksittäistapaukseksi VERLA-hankkeen aineistossa, intuitiivisesti on helppo ajatella, että pidempi viipymä vaikuttaa mikrobiologiaan ja kytkeytyy myös putkirikkoihin.

Samoin kuin vesilaitoksen V04, myös klooriamiinilla jälkidesinfioidun vesilaitoksen V11 tulokset edustavat tausta-aineiston tasolla pysyviä indeksiarvoja ja yleisesti ottaen matalia kokonaisbakteeritasoja (Kuvat 5.2a-b), poikkeuksena vesipostista 1P viikko työn päättymisen jälkeen otetut näytteet, joiden kokonaisbakteeritasot olivat VERLA-hankkeen korkeimmat. Vielä kolmen kuukauden kuluttuakin vesipostin kokonaisbakteeritasot olivat selvästi verkoston tasoa korkeammat. Vaikka vesilaitoksen V11 näytteissä ei ollut selkeästi kohonneita, oranssilla/punaisella merkittyjä indeksejä, on Kuvaa 5.2a katsottaessa ilmeistä, että viikko työn jälkeen bakteeri-indeksit olivat keltaisia, kun ne muulloin pysyivät vihreinä, mitä voidaan pitää verkostotyön vaikutuksena. Myös solujen energia-aineenvaihdunnassa tärkeää adenosini trifosfaattia määrittävällä ATP-mittauksella pystyttiin tuomaan esiin ero verkostotyön alaisen näytepisteen 1A ja kontrollipisteen mikrobiaineenvaihdunnan aktiivisuuden välillä (Kuva 6.2). Noin kaksinkertainen taso näytepisteessä 1A verrattuna kontrolliin (112%:n nousu, johon liittyy p-arvo = 0.004**) osoittaa, että mikrobiologisia mittauksia kannattaa tarkastella verkostotöiden aikana.

Klooriamiinilla jälkidesinfioidun verkoston V03 saneeraustyössä T1 (Kuva 5.3a) korkeimmat kokonaisbakteeritasot ja indeksien arvot mitattiin näytteessä haarasta, jossa verkostotyöt olivat päättyneet puolitoista kuukautta ennen näytteenottoa. Tähän haaraan oli kuitenkin yhdistetty uusi verkostohaara juuri ennen näytteenottoa, joten kokonaisbakteerien ja indeksien nousu todennäköisesti johtui uudesta, juuri valmistuneesta verkostohaarasta tulleesta vedestä. Kahden kuukauden kuluttua tästä näytteenotosta eli kolme ja puoli kuukautta sen jälkeen, kun työt olivat päättyneet aiemmin valmistuneessa verkoston haarassa ja kaksi kuukautta töiden päättymisen jälkeen myöhemmin valmistuneessa verkoston haarassa tilanne oli normalisoitunut etenkin näytepisteessä 3C. Vesilaitoksen V03 työssä T1 enterobakteerit, legionella ja klostridiklusteri I heijastivat muutosta parhaiten. Verkoston V03 toisessa saneeraustyössä T3 bakteeri- ja biofilmi-indeksit olivat koholla jo ennen työn aloittamista (Kuva 5.3b), mikä oletettavasti heijastelee käyttöikänsä päässä olevan verkon tilannetta. Mitatuissa mikrobisuureissa ei nähty muutosta työn aikana tai sen jälkeen verrattuna ennen työtä otettuihin näytteisiin (Kuva 5.3b). Itse asiassa mikrobiologinen tilanne tasaantui niin, että sekä kokonaisbakteeritasot että indeksit ovat 2,5 kk työn päättymisen jälkeen matalampia kuin ennen työn aloittamista.

Pintavettä raakavedenlähteenään käyttävässä, klooriamiinilla jälkidesinfioidussa verkostossa V05 kokonaisbakteerien ja indeksien perustaso saneerauskohteessa T1 (Kuva 5.4a) oli hieman korkeampi kuin verkostoissa V04, V11 ja V03. Verkoston V05 työn T1 kokonaisbakteeritasot olivat samalla tasolla kuin verkoston V04 työn T2 bakteeritasot ja samoin kuin verkoston V04 työn T2 verkostohaara, myös verkoston V05 työn T1 verkostohaara oli käyttöikänsä päässä ja indeksit ennen työtä olivat koholla ennen kaikkea klostridiklusterin I, enterokokkien ja legionellan sekä sulfaatinpelkistäjien vuoksi. Verkoston V05 haaraan T1 oli kuitenkin ennen näytteenottoa kiinnitetty uusi paloposti uudella putkenpätkällä, mikä varmasti myös vaikutti veden mikrobiologiseen laatuun. Saman V05-verkoston toisissa töissä T5 (Kuva

5.4a) ja T4 (Kuva 5.4b) verkostonosat eivät vielä olleet saavuttaneet käyttöikänsä päätä ja tässä verkostonosassa kokonaisbakteerit ja indeksit pysyivät tausta-aineiston tasolla. Verkoston V05 työn T1 aikana eli työn ensimmäisen vaiheen valmistuttua mikrobiologinen laatu ei vielä ollut palautunut ja varsinaisia 'Jälkeen'-näytteitä työstä T1 ei saatu.

Vesilaitoksen V05 ylävesisäiliön pesusta/huuhtelusta P3 mitattiin korkeat kokonaisbakteeritasot, mutta indekseissä ei ollut eroa 'Ennen'- ja 'Jälkeen' näytteiden välillä (Kuvat 5.4b ja 5.12). Näistä ylävesisäiliön pesunäytteistä määritettiin Teollisuuden Veden mittausten lisäksi alkueläimiä ja bakteereita THL:ssä ja viruksia Tampereen yliopistossa, mutta kaikkien näiden tasot jäivät määrittämissä rajojen alle, lukuunottamatta mykobakteereja ja pieniä legionellatasoja, mikä on hyvin linjassa myös Teollisuuden Veden mittausten kanssa.

3.2.2 Natriumhypokloriitilla jälkidesinfioidujen verkkojen indeksiarvot

Natriumhypokloriitilla jälkidesinfioidun vesilaitoksen V08 vesitornin pesussa P1 kokonaisbakteerit olivat matalat ja indeksit tausta-aineiston tasolla (Kuvat 5.5 ja 5.12), mikä saattaa liittyä siihen, että vesilaitoksella V08 tornit ja säiliöt pestään vuosittain, kun taas muilla vesilaitoksilla harvemmin. Vesilaitoksen V08 työstä T2 ei saatu näytteitä työn aikana tai työn jälkeen, mikä on sikäli vahinko, että tässä verkostonosassa ero kuolleiden+elävien ja elävien bakteerien välillä oli tässä aineistossa harvinaisen suuri, joten olisi ollut kiinnostavaa nähdä, miten mikrobiologinen tila olisi kehittynyt työn aikana ja sen jälkeen.

Natriumhypokloriitilla jälkidesinfioidun verkoston V07 huuhtelutyössä H1 indeksit olivat koholla ennen huuhtelua ja huuhtelun aikana enterobakteerien, legionellan ja enterokokkien sekä sulfaatinpelkistäjien vuoksi, mutta työn jälkeen ne palasivat tausta-aineiston tasolle (Kuva 5.6a). Kuukausi työn H1 jälkeen indeksit olivat taustaaineiston tasolla ja kokonaisbakteerit matalammat kuin ennen huuhtelua.

Ennen verkoston V07 ylävesisäiliön pesua P3 kuolleet+elävät kokonaisbakteerit ja indeksit olivat koholla mutta tasaantuivat 2 viikkoa pesun jälkeen (Kuvat 5.6a ja 5.12). Tässä indeksejä nostivat enterobakteerien, legionellan ja enterokokkien sekä sulfaatinpelkistäjien lisäksi myös klostridiklusteri I.

Verkoston V07 toisen haaran huuhtelussa H2 (Kuva 5.6b) kokonaisbakteerit ja indeksit olivat koholla ennen töitä, mutta laskivat heti huuhtelun jälkeen. Kahden kuukauden näytteessä ja erityisesti neljän kuukauden näytteessä kokonaisbakteeritasot ja indeksit olivat korkeammalla, mahdollisesti kuvastaen sitä, että biofilmit olivat alkaneet kasvaa verkoston seinämiin, kun huuhtelusta oli kulunut aikaa. Samat bakteeriryhmät (enterobakteerit, legionella, enterokokit ja klostridiklusteri I sekä sulfaatinpelkistäjät) kuin saman verkon pesutyössä P3 nostivat indeksejä myös huuhtelutyössä H2.

Natriumhypokloriitilla jälkidesinfioidun verkon V01 työstä T1 (Kuva 5.7) ei saatu näytettä ennen työtä, koska verkostotyö oli käynnistynyt ennen VERLA-hankkeen alkua. Verkoston V01 ensimmäisessä eli työn aikana 22.10.2019 otetussa näytteessä 1A indeksit olivat koko VERLA-hankkeen korkeimpia ja 'kuolleet+elävät'-näytteen biofilmi-indeksi kaikkein korkein. Verkkojen V03, V05 ja V07 kohonneista indeksiarvoista verkon V01 työn aikaisen näytteet arvot poikkesivat sikäli, että verkossa V01 myös suoliston valtaryhmät 1 ja 2 nostivat indeksiarvoja klostridiklusterin I ja legionellojen lisäksi. Onneksi tämä verkoston osa ei näytteenottohetkellä ollut yhteydessä muuhun verkostoon, sillä verkoston osaan liittyvä riski oli tunnistettu ajoissa. Viikkoa myöhemmin "Aikana 2" -näytteissä tilanne oli jo parempi ja seuraavien kuukausien aikana veden mikrobiologinen tila oli saavuttanut verkoston perustason. Erityisen mielenkiintoista oli huomata, että sekä kokonaisbakteeritasot että indeksit laskivat edelleen neljän kuukauden näytteiden tasosta seitsemään kuukauteen asti.

3.2.3 Ilman kloorausta jälkidesinfioidujen verkkojen indeksiarvot

Ilman klooria jälkidesinfioidun, iäkkään verkon V06 kokonaisbakteerit ja indeksit olivat ennen sujutustyötä koholla (Kuva 5.8). Työn aikana otettu näyte on väliaikaisesta vedenjakelusta, joten siihen tasoja ei kannata verrata, mutta heti työn jälkeen sekä kokonaisbakteerit että indeksit olivat vielä korkeampia kuin ennen työn aloitusta, 'kuolleet+elävien' bakteri-indeksi itse asiassa VERLA-hankkeen aineiston korkein ja biofilmi-indeksi toiseksi korkein. Elävien bakteereiden indeksit kaksi viikkoa työn päättymisen jälkeen pysyivät sen sijaan tausta-aineiston tasolla, mikä kertoo siitä, että verkoston käyttöön oton natriumhypokloriitti oli tappanut bakteereita. Kaksi viikkoa myöhemmin eli kuukausi työn päättymisen jälkeen tilanne oli indeksien osalta normalisoitunut, mutta kokonaisbakteeritasot olivat edelleen korkeat. Kaksi kuukautta myöhemmin eli 3,5 kk työn päättymisen jälkeen kokonaisbakteerit ja indeksit olivat alemmat kuin ennen työtä. Samoin kuin verkoston V07 huuhtelussa H2 ajan mittaan bakteeritasot kääntyivät jälleen nousuun, oletettavasti heijastaen biofilmiön kasvun

verkoston seinämiin. Verkostossa V06 enterobakteerit ja legionellat sekä sulfaatinpelkistäjät heijastivat kohonneita indeksejä parhaiten.

Verkoston V02 verkostosaneeraustyön T1 aikana (Kuva 5.9a) näkyy samanlainen kokonaisbakteerien ja indeksien nousu ja lasku kuin verkoston V01 saneeraustyössä (Kuva 5.7). Työn aikana indeksit olivat koholla, mutta samoin kuin verkostossa V01, tilanne alkoi verkostossa parantua välittömästi työn päätyttyä. Indeksit olivat tasaantuneet 3 kuukautta työn päättymisen jälkeen, mutta kokonaisbakteeritasojen lasku jatkui vielä kolmesta kuukaudesta kuuteen kuukauteen työn päättymisen jälkeen, samoin kuin havaittiin verkoston V01 työssä T1. Verkoston V02 työssä T1 enterobakteerit ja klostridiklusterit I, suoliston valtaryhmät 1 ja 2 sekä sulfaatinpelkistäjät heijastivat työn mikrobiologisia vaikutuksia selvimmin eli tältäkin osin verkon V02 työ T1 muistutti verkon V01 työtä T1.

Verkoston V02 saneeraustyöstä T2 ei saatu 'Ennen'-näytettä, koska työ oli alkanut jo ennen VERLA-hankkeen käynnistymistä. Työn aikana sekä kokonaisbakteeritasot että indeksit olivat korkeammalla tasolla kuin saman verkon perustilanteessa eli työn T1 näytteessä kuusi kuukautta työn päättymisen jälkeen. Työn T2 'Jälkeen'-näyte otettiin vain muutama päivä työn päättymisen jälkeen, jolloin mikrobiologinen tilanne ei ollut ehtinyt palautua, eikä tämän myöhempää 'Jälkeen'-näytettä saatu.

Ennen verkostotöitä otetuista näytteistä mitattiin VERLA-hankkeen korkeimmat indeksiarvot verkoston V09 haarasta (Kuva 5.10), jossa virtausten tiedettiin olevan niin alhaisia, että osattiin etukäteen ennakoida, että saostumat ja biofilmien liikkeet vaikuttaisivat tuloksiin. Työn aikana sekä kokonaisbakteeritasot että indeksiarvot edelleen kasvoivat ennen työn aloittamista vallinneisiin, jo korkeisiin tasoihin verrattuna. On kuitenkin syytä huomata, että haara, josta 'Aikana'-näytteet kerättiin, ei ollut yhteydessä muuhun verkostoon, koska verkoston osaan liittyvä riski oli tunnistettu ajoissa. Muutos 'Aikana'-näytteessä näkyi paitsi enterobakteereissa ja legionelloissa myös sulfaatinpelkistäjissä, mikä kuvastaa biofilmien liikkeellelähtöä. Verkoston V09 näytteistä tehtiin THL:llä ja Tampereen yliopistossa vertailuanalytiikkaa. Näytteistä ei löydetty alkueläimiä eikä viruksia, mutta legionellan tasot olivat korkeammat verkostossa V09 kuin verkostossa V05 THL:n mittauksissa, samoin kuin myös Teollisuuden Veden mittauksissa. THL osoitti *E.colin* RNA:ta molemmista 'Ennen'-näytteistä ja toisesta 'Aikana'-näytteestä sekä *E.colin* DNA:ta toisesta 'Aikana'-näytteestä. Teollisuuden Veden pienemmästä näytetilavuudesta tekemässä määrittämissä *E.coli* jäi määrittämissärajien alle. Verkoston työ oli kesken vielä VERLA-hankkeen näytteiden keräämisen päättyessä, mutta keväällä 2020 työstä otettiin kolmen kuukauden näyte, jossa kokonaisbakteeritasot ja indeksit olivat matalia, ja kesän korvalla kuuden kuukauden näyte, jossa sekä kokonaisbakteerit että indeksit olivat jälleen korkeammat. Työn jälkeisiä näytteitä tästä työstä ei siis saatu, joten tilanteen normalisoitumisaikataulua ei tiedetä.

Muiden vesilaitosten työt koskivat enimmäkseen yhtä verkoston haaraa tai joka tapauksessa pientä aluetta, mutta ilman klooria jälkidesinfioidun vesilaitoksen V10 työ

T1 käsitti kokonaisen alueen saneerauksen (Kuva 5.11). Vaikka työt olivat päättyneet kiinteistön 10A kohdalla joulukuussa 2019, aluesaneeraus jatkui kiinteistön ympäristössä kevään 2020 ajan, joten yksikään vesilaitoksen V10 verkosta otettu näyte ei edusta todellista työnjälkeistä näytettä, vaan heijastaa työn aikaisia mikrobiologisia heilahteluja. Näin ollen ei ole yllättävää, että sekä kokonaisbakteeritasot että indeksit olivat korkeita oleellisesti kaikissa työn T1 mittauksissa. Indekseihin vaikuttivat vesilaitoksella V10 eniten enterobakteerit, legionelat, klostridiklusteri I sekä sulfaatinpelkistäjät, osassa näytteitä myös suoliston valtaryhmä 2 ja enterokokit.

3.3 ATP-tulokset

Elävien mikrobien qPCR-mittauksen (DNA-pohjainen analyysi yhdistettynä PMAkäsittelyyn) pystyttiin osoittamaan antavan samoja tasoja kuin solujen energiaaainevaihdunnassa tärkeää adensiinitrifosfaattia määrittävän ATP-mittauksen, kun ATP-tulokset muunnettiin soluiksi/ml käyttäen *E.coli*-solun keskimääräistä ATPpitoisuutta ja solun kokoa (Kuva 6.1). Kahden eri periaatteisiin perustuvan mittauksen (ehyt solukalvo ja DNA:n läsnäolo vs. solun aineenvaihdunta) vertailukelpoiset tasot

lisäävät luottamusta siihen, että nämä viljelystä riippumattomat menetelmät mittaavat mielekkäitä muutoksia. Kun vielä otetaan huomioon ATP-mittauksen nopeus ja helppous, paikan päällä tehtävä ATP-mittaus on lupaava vaihtoehto talousvesiverkoston mikrobiologisen tilan rutiiniseurantaan, erityisesti mikäli päästään käyttämään jatkuvatoimisia ATP-mittareita, joita voidaan asentaa tärkeisiin seurantakohteisiin.

Kuten jo luvussa 3.2 vesilaitoksen V11 tulosten kohdalla todettiin, ATP-mittauksella pystyttiin tuomaan esiin ero verkostotyön alaisen näyteen 1A ja kontrollipisteen mikrobiainevaihdunnan aktiivisuuden välillä (Kuva 6.2). Noin kaksinkertainen taso näyteen 1A verrattuna kontrolliin (112%:n nousu, johon liittyy p-arvo = 0.004**) osoittaa, että mikrobiologisia mittauksia kannattaa tarkastella verkostotöiden aikana.

Vesilaitoksella V10 ATP-mittauksia tehtiin vesilaitoksilta lähtevästä vedestä UVkäsittelyn jälkeen sekä kolmesta verkon mittauspisteestä (Kuva 6.4). Mittaukset kertovat ensinnäkin että siinä verkostonosassa, johon vesi tulee vedenottamolta 1, mikrobiaktiivisuus on hieman korkeampaa kuin vedenottamolta 2 tulevan veden verkostonosassa. Vielä kiinnostavampaa on kuitenkin huomata, että heti UV-käsittelyn jälkeen otettu näyte ei kuvasta UV-käsittelyn vaikutusta, vaan kertoo pikemmin raakaveden mikrobiaktiivisuudesta <https://www.luminultra.com/atp-levels-wontchange-uv-treatment/>. Näin siksi että UV-käsittely tappaa solut tuhoamalla DNA:ta ja RNA:ta, jolloin solu ei enää pysty tuottamaan yhtään uutta proteiinia, minkä seurauksena aineenvaihdunta vähitellen hiipuu. UV-käsittely ei kuitenkaan heti aiheuta solun lyysaamista ja solun sisällä oleva ATP siis pysyy solun sisällä ja tulee mitatuksi

ATP-mittauksessa. Näin ollen heti UV-käsittelyn jälkeen otetusta näytteestä tulos on oleellisesti sama kuin ennen UV-käsittelyä eli UV-käsittelyn vaikutusta ei tällaisesta heti UV-käsittelyn jälkeen otetusta näytteestä saada selville. Jos näytettä säilytettäisiin pidempään ennen ATP-mittausta, UV-käsittelyn tappamat solut alkaisivat hajota, jolloin tulos olisi realistisempi, mutta kestäisi pidempään. Niinpä hieman kauempaa verkostosta otettu näyte olisi todennäköisesti paras tapa haarukoida UV-käsittelyn vaikutusta.

3.4 Sekvensointitulokset

Kuolleiden+elävien ja elävien bakteerien kokonaisbakteeritulokset olivat yleensä lähellä toisiaan (elävät edustivat tyypillisesti 20-50% kaikista mikrobeista, välillä jopa enemmän). Sekvensointitulokset kuitenkin paljastivat että kuolleiden+elävien ja elävien bakteerien yhteisö oli sekvensoiduissa näytteissä erilainen: α -proteobakteereita (erityisesti heimoja *Bradyrhizobiaceae* ja *Hyphomicrobiaceae* lahkossa *Rhizobiales*, heimoja *Acetobacteraceae* ja *Reyranellaceae* lahkossa *Rhodospirillales* ja heimoja *Erythrobacteraceae* ja *Sphingomonadaceae* lahkossa *Sphingomonadales*) oli elävissä bakteereissa enemmän kuin kuolleissa+elävissä (39% vs. 31%, $p<0.0001$), kun taas β -proteobakteereita (erityisesti heimoa *Gallionellaceae* lahkossa *Gallionellales* ja sukua *Aquabacterium* lahkossa *Burkholderiales*) oli elävissä bakteereissa vähemmän kuin kuolleissa+elävissä (26% vs. 34%, $p<0.001$). Tämä tarkoittaa, että α -proteobakteerit kestivät desinfiointia paremmin kuin β -proteobakteerit. Sekä α - että β -proteobakteerit edustavat ympäristön aineiden kiertoon osallistuvia bakteereita eikä niihin käytännössä kuulu ihmiselle vaarallisia bakteereja (Garrity ym. 2003, Williams ym. 2007 sekä <https://www.biologyonline.com/dictionary/alphaproteobacteria> ja <https://www.biologyonline.com/dictionary/betaproteobacteria>). Lisäksi α -proteobakteereihin kuuluvia legionelloja oli elävissä bakteereissa enemmän kuin kuolleissa+elävissä (1,2% vs. 0,5%).

Kun tarkastellaan eri tavalla jälkidesinfioidujen vesilaitosten välisiä eroja (Kuvat 7-9), proteobakteerit edustivat valtaosaa kaikissa näytteissä, mutta niitä oli enemmän kloorauksella jälkidesinfioiduissa verkoissa kuin ilman kloorausta jälkidesinfioiduissa verkoissa (90% vs. 57%, $p<0.0001$) ja kaikkia muita pääjaksoja oli vastaavasti vähemmän ($p<0.0001$). Tämä siis tarkoittaa, että proteobakteerit kestävät kloorausta paremmin kuin muut näytteiden bakteerit (ks. Gomez-Alvarez ym. 2012).

Proteobakteerien kestävyys erilaisia antimikrobiaalisia aineita ja käsittelyjä vastaan on tullut esiin Teollisuuden Veden töissä muilla asiakassektoreilla, kuten metsäteollisuudessa ja kaivosteollisuudessa. Erityisen selvästi proteobakteerien erilainen osuus eri tavalla jälkidesinfioiduissa verkoissa näkyy ennen töitä ja töiden jälkeen, koska töiden aikana ja heti niiden jälkeen myös klooratuissa verkoissa proteobakteerien osuus laski. On tosin syytä huomata, että tässä

sekvensointiaineistossa klooriamiinilla jälkidesinfioiduista verkoista töiden aikaisia näytteitä oli vain verkosta V05, jossa proteobakteerien osuudet olivat muita klooriamiinilla desinfioituja verkkoja V04, V11 ja V03 matalampia ja vastaavasti muiden pääjaksojen, kuten bakteroideteksiinien, planktomykeettien ja nitrospirojen, osuudet korkeampia.

Proteobakteerien jälkeen suurimmat pääjaksot olivat bakteroidetekset, planktomykeetit ja asidobakteerit (Krieg ym. 2010), joita kaikkia klooraamattomissa verkossa oli keskimäärin ~8%, mikä on linjassa Inkisen ym. 2016 tulosten kanssa. Klooratuissa verkoissa näiden pääjaksojen osuudet joissakin näytteissä, erityisesti töiden aikana kerätyissä, nousivat yli 5%, mutta klooraamattomissa verkoissa osuudet ylittivät kaikissa näytteissä 5%. Asidobakteereita oli eniten verkossa ilman klooria jälkidesinfioidussa verkossa V09, mutta niitä esiintyi myös ilman klooria jälkidesinfioiduissa verkoissa V06 ja V02. Pääjakson *Bacteroidetes* sisällä bakteerit jakautuivat luokkiin *Chitophagia* (johon kuuluu mm. näissä näytteissä esiintyvä suku *Terrimonas* heimossa *Chitinophagaceae*), *Flavobacteriia* (johon kuuluu mm. näissä näytteissä esiintyvä suku *Flavobacterium* heimossa *Flavobacteriaceae*) ja *Sphingobacteriia* sekä luokittelemattomiin bakteroideteksiinien. *Terrimonas*-suvun osalta ero kloorauksella ja ilman kloorausta jälkidesinfioidujen verkkojen välillä oli selkein. Sekä *Terrimonas*-suku että *Flavobacterium*-suku edustavat hapellisissa oloissa viihtyviä, kemoheterotrofeja, joilla on myös denitrifiointikyky (Xie & Yokota 2006, McCammon & Bowman 2000, Louca ym. 2016).

Ennen kaikkea klooriamiinilla jälkidesinfioiduista verkoista löytyi 1-2% pääjakson *Nitrospirae* bakteereita, erityisesti *Nitrospira*-sukua, jonka tiedetään toisaalta kykenevän hapettamaan ammoniumin nitriitiksi ja edelleen nitraatiksi (mikä kyky molempiin hapetusreaktioihin on harvinainen, ellei suorastaan ainutlaatuinen bakteereiden keskuudessa), mutta toisaalta tätä sukua on löydetty korroosioputkistoista ja sitä kuvaillaan myös happamassa viihtyväksi raudan hapettajaksi (Ehrich ym. 1995, Daims & Wagner 2018, Louca ym. 2016).

Proteobakteereihin kuuluvista luokista VERLA-näytteissä esiintyi ennen kaikkea α - ja β -proteobakteereja, mutta myös γ - ja δ -proteobakteereja. α -Proteobakteereista on syytä mainita heimoon *Legionellaceae* kuuluva *Legionella*-suku ja heimoon *Pseudomonaceae* kuuluva *Pseudomonas*-suku, joita löytyi myös Inkisen ym. (2016) tutkimuksessa. *Pseudomonas*-sukua esiintyi ennen kaikkea klooriamiinilla jälkidesinfioiduissa verkoissa ja näiden näytteiden tärkein laji on kuvattu raudan ja rikin hapettajaksi (Kwon ym. 2003, Louca ym. 2016). β -Proteobakteereja esiintyi eniten ilman klooria jälkidesinfioiduissa verkoissa, mutta koska ne käytännössä edustivat luokittelemattomia β -proteobakteereja, on hankalaa sanoa niiden aineenvaihdunnasta mitään.

Sekä luokan α - että luokan β -proteobakteereja esiintyi enemmän kloorilla jälkidesinfioiduissa verkoissa kuin ilman kloorausta jälkidesinfioiduissa verkoissa (keskimäärin 44% vs. 49% vs. 21% ja 39% vs. 37% ja 26%).

□-proteobakteereihin kuuluvan lahkon *Caulobacterales* heimoon *Caulobacteraceae* kuuluva *Brevundimonas denitrificans*-laji esiintyi näissä näytteissä. Kuten nimestäkin voi päätellä, tällä lajilla on denitrifikaatiokyky (Tsubouchi ym. 2014), mutta perustuen siihen mitä tiedetään sen lähisukulaisten aineenvaihdunnasta, se todennäköisesti edustaa hapellisissa oloissa viihtyvää kemoheterotrofia (Louca ym. 2016) eli olisi aineenvaihdunnaltaan samanlainen kuin *Bacteroidetes*-pääjakson suvut *Terrimonas* ja *Flavobacterium*.

Toisessa □-proteobakteerien lahkossa *Rhizobiales* esiintyi heimoon *Bradyrhizobiaceae* kuuluvan *Afipia*-suvun, heimoon *Hyphomicrobiaceae* kuuluvan *Hyphomicrobium*-suvun ja heimoon *Hyphomicrobiaceae* kuuluvan *Methylobacterium*-suvun edustajia. Tätä lahkoo esiintyi etenkin natriumhypokloriitilla jälkidesinfioitun verkon V07 ja ilman klooria jälkidesinfioitun verkon V10 näytteissä. *Afipia*- ja *Hyphomicrobium*-sukujen tiedetään kykenevän denitrifikaation sekä hajottamaan virtsa-ainetta, kun taas *Methylobacterium*-suku edustaa rikin (ja mahdollisesti raudan) hapettajia (Brenner ym. 1991, Louca ym. 2016). Myös Inkinen ym. 2016 löysi talousvesiverkostoista lahkon *Rhizobiales* edustajia.

Kolmatta □-proteobakteerien lahkoo *Rhodospirillales* (heimon *Reyranellaceae* laji *Reyranella soli* ja heimon *Acetobacteraceae*) esiintyi etenkin klooriaminilla jälkidesinfioituissa verkoissa V05 ja V11 ja natriumhypokloriitilla jälkidesinfioituissa verkossa V07. *Reyranella soli* edustaa □-proteobakteerien toiseen lahkoon kuuluvan *Brevundimonas denitrificans*-lajin ja *Bacteroidetes*-pääjakson sukujen *Terrimonas* ja *Flavobacterium* tapaan hapellisissa oloissa viihtyvää kemoheterotrofia hapettajia (Kim ym. 2013, Louca ym. 2016).

Neljäs näissä näytteissä tärkeä □-proteobakteerien lahko oli *Sphingomonadales*, johon kuuluvat heimot *Erythrobacteraceae* ja *Sphingomonadaceae*. Jälkimmäistä heimoa edusti näissä näytteissä 6 sukua, joista suurimmalla osuudella *Sphingomonas*-suku, jonka tiedetään kykenevän fototrofiaan (yhteystämiseen) ja toisaalta aromaattisten yhdisteiden hajotukseen (Louca ym. 2016). Näitä bakteereita esiintyi etenkin natriumhypokloriitilla jälkidesinfioituissa verkoissa V07 ja V01 ja klooriamiinilla jälkidesinfioituissa verkoissa V05, V04, V03 ja V11). Yksi *Sphingomonas*-suvun laji edusti yli 10% kokonais-bakteereista klooriamiinilla jälkidesinfioituissa verkoissa ja yli 5% natriumhypokloriitilla jälkidesinfioituissa verkoissa ja vesilaitoksella V04 sen osuus ylitti 30%.

□-proteobakteerien lahkoissa edustettuina olivat *Burkholderiales*, *Gallionellales*, *Methylophilales* ja *Nitrosomonadales*. Lahkon *Burkholderiales* edustajista *Aquabacterium*-suvun, jota esiintyi etenkin töiden jälkeen ilman kloorausta jälkidesinfioituissa verkoissa V02 ja V06, ja heimon *Comamonadaceae* edustajien tiedetään kykenevän raudan hapetukseen ja toisaalta aromaattisten yhdisteiden hajotukseen (Louca ym. 2016). Heimon *Comamonadaceae* bakteerit edustivat kolmea laji/sukutasolle tunnistamatonta sukua, joista kahta esiintyi klooriamiinilla

jälkidesinfioiduissa verkoissa, etenkin verkoissa V05 ja V11 ja yhtä natriumhypokloriitilla jälkidesinfioiduissa verkoissa, etenkin verkoissa V07 ja V01.

Lahkoa *Gallionellales* edustivat heimon *Gallinellaceae* raudan ja rikin hapettaajat (Louca ym. 2016) etenkin klooriamiinilla jälkidesinfioiduissa verkoissa V05, V04 ja V03. Lahkon *Methylophilales* heimon *Methylophilaceae* bakteerit puolestaan kykenevät pelkistämään nitraattia ja hajottamaan virtsa-ainetta (Louca ym. 2016) samoin kuin \square proteobakteerisukujen *Afipia*- ja *Hyphomicrobium*. Samanlainen aineenvaihdunta on myös lahkon *Nitrosomonadales* suvulla *Nitrosomonas*.

Sekvensointiaineistossa varsin iso osa bakteereista edusti sellaisia mikrobiryhmiä, joita ei pystytä täysin varmasti tunnistamaan edes pääjaksotasolle saati, että ne olisi pystytty liittämään johonkin lajikuvaukseen. Näiden bakteerien aineenvaihdunnasta on mahdotonta sanoa mitään varmaa. On kuitenkin syytä korostaa, että lukuunottamatta legionelloja, joiden on jo tähän asti tiedetty viihtyvän talousvesiverkoistoissa (Inkinen ym. 2016), sekvensointitulokset eivät paljastaneet ihmiselle vaarallisia bakteereja.

Kaiken kaikkiaan sekvensointitulokset vahvistivat qPCR-mittausten perusteella laskettuihin indekseihin ja kokonaisbakteeritasoihin perustunutta käsitystä, että jälkidesinfiointitavalla on voimakas vaikutus mikrobiyhteisöihin.

4 Johtopäätökset

Hankkeessa havaittiin, että verkostoveden mikrobiologinen laatu saattaa olla heikentynyt ennen töiden aloittamista erityisesti silloin kun verkosto on käyttöikänsä päässä. Silti muutokset korostuvat töiden aikana ja muutamia viikkoa sen jälkeen, kun työt näytepisteen lähiympäristössä ovat päättyneet. Mitatuista mikrobiparametreista enterobakteerien, legionellojen ja klostridiklusterin I huomattiin tyypillisesti heijastavan selvimmän mikrobiologisia muutoksia, välillä myös sulfaatinpelkistäjien. Yli kuukauden kuluttua töiden päättymisestä näytepisteen lähiympäristössä mikrobiologinen laatu oli elävien mikrobien osalta tasaantunut kaikissa verkoissa, joista oli saatu tällainen pidemmän aikajänteen seurantanäyte. Mikrobiologisen laadun paraneminen jatkui joissakin tapauksissa puoleen vuoteen asti.

Aineistossa tuli vahvasti esiin, että jälkidesinfiointitapa vaikutti veden mikrobiologiaan sekä ennen töitä ja kuukausia töiden päättymisen jälkeen, mutta etenkin töiden aikana ja muutamia viikkoja töiden jälkeen: klooriamiini osoittautui tehokkaammaksi kuin natriumhypokloriitti tai jälkidesinfiointi ilman klooria. Tämä tulos on hyvin linjassa Brumfieldin ym. (2020), Pinelin ym. (2020) ja Zhoun ym. (2020) tuoreiden tutkimuksen kanssa. On selvää, että tätä jälkidesinfiointitavan voimakasta vaikutusta ei olisi ollut mahdollista saada selville viljelymenetelmiä käyttäen. Jälkidesinfiointitavan voimakas vaikutus vaikeutti muiden vaikutusten havaitsemista, mutta verkon kunnan huomattiin kuitenkin heijastuvan mikrobiologiaan. Mikrobiologisia muutoksia ei voitu kytkeä

verkoston kloorin pitoisuuksiin, sillä mittauksia kloorin pitoisuuksista eri aikoina ja eri puolella verkostoa ei ollut saatavilla. On kuitenkin syytä huomata, että suomalaisissa talousvesiverkostoissa kloorin pitoisuudet ovat yleensä pieniä.

Verkoston huuhtelujen tai pesujen ei havaittu vaikuttavan veden mikrobiologiseen laatuun. Tämä on luonteva tulos siihen nähden että verkostoja tai niiden osia pestään ja huuhdellaan enemmän siksi että voidaan hallita sakkoja, väriä, hajua ja makua.

On syytä huomata, että tässä tutkimuksessa käytetyt menetelmät eivät edusta viranomaisvalvonnan vaatimia menetelmiä, joten minkään tämän tutkimuksen löydöksen perusteella ei voida sanoa, etteivätkö verkostojen vedet täyttäisi viranomaisvalvonnan mukaisia laatuksiteerejä. Ei myöskään voida suoraan sanoa, mitkä havaituista muutoksista ovat normaaleja ja mitkä mahdollisesti viittaavat kohonneeseen riskiin.

ATP-mittauksen todettiin soveltuvan erinomaisesti talousvesiverkoston rutiiniseurantaan. Vaikka kohonneita ATP-tasoja ei voidakaan suoraan kytkeä mikrobiologisiin riskeihin, ATP-mittausta voidaan hyödyntää arvioitaessa, onko verkoston vedessä ja seinämien biofilmeissä mikrobikasvu lähestymässä tilannetta, jossa myös viranomaisvalvonnan menetelmät antaisivat poikkeavia tuloksia, jolloin verkoston osa voitaisiin puhdistaa ennen kuin tilanne pääsisi pahenemaan. Erityisesti jatkuvatoimisten ATP-mittarien tarkempi testaaminen talousvesiverkostoissa on selkeä seuraava askel.

5 Viitteet

Ahmad JI, Liu G, van der Wielen PWJJ, Medema G, van der Hoek JP 2020 Effects of cold recovery technology on the microbial drinking water quality in unchlorinated distribution systems Environmental Research 183 109175 <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109175>

Ashbolt NJ 2015 Microbial contamination of drinking water and human health from community water systems. Curr Environ Health Rep, 2, 95– 106.

Aw TG, Rose JB 2012 Detection of pathogens in water: from phylochips to qPCR to pyrosequencing. Curr Opin Biotechnol 23, 422–430.

Brenner DJ, Hollis DG, Mos CW, English CK, Hall GS, Vincent J, Radošević J, Birkness KA, Bibb WF, Quinn FD, Swaminathan B, Weaver RE, Reeves MW, O'Conner SP, Hayes PS, Tenover FC, Wtergerwalt AG, Perkins BA, Daneshvar MI, Hill BC, Washington JA, Woods TC, Hunter SB, Hadfield TL, Ajello GW, Kaufmann AF, Wear DJ, Wenger JD 1991 Proposal of *Afipia* gen. nov., with *Afipia felis* sp. nov. (Formerly the Cat Scratch Disease Bacillus), *Afipia clevelandensis* sp. nov. (Formerly the Cleveland Clinic Foundation Strain), *Afipia broomeae* sp. nov., and Three Unnamed Genospecies Journal of Clinical Microbiology 29 (11) 2450-2460

Brumfield KD, Hasan HA, Leddy MB (2020) A comparative analysis of drinking water employing metagenomics PLoS ONE 15(4) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231210>

Buse HY, Lu J, Lu X, Mou X, Ashbolt NJ 2014 Microbial diversities (16S and 18S rRNA gene pyrosequencing) and environmental pathogens within drinking water biofilms grown on the common premise plumbing materials unplasticized polyvinylchloride and copper. FEMS Microbiol Ecol 88, 280– 295.

Chiao TH, Clancy TM, Pinto A, Xi C, Raskin L 2014 Differential resistance of drinking water bacterial populations to monochloramine disinfection. Environ Sci Technol 48, 4038– 4047

Daims H., Wagner M 2018 Nitrospira. Trends in Microbiology 26 (5) 462-463 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.001>

Enrich S, Behrens D, Lebedeva E, Wolfgang L, Bock E 1995 A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. Archives of Microbiology 164, 16–23

Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG 2003 Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edition. Release 4.0. Springer-Verlag. New York. pp. 1-397

Gomez-Alvarez V, Revetta RP, Santo Domingo JW 2012 Metagenomic Analyses of Drinking Water Receiving Different Disinfection Treatments Applied and Environmental Microbiology 78(17) 6095-6102 <https://doi.org/10.1128/aem.01018-12>

Henne K, Kahlisch L, Höfle MG, Brettar I 2013 Seasonal dynamics of bacterial community structure and composition in cold and hot drinking water derived from surface water reservoirs. Water Res 47, 5614– 5630.

Inkinen J, Jayaprakash B, Keinänen-Toivola MM, Ryu H, Pitkänen T 2016 Diversity of ribosomal 16S DNA- and RNA-based bacterial community in an office building drinking water system <https://doi.org/10.1111/jam.13144>

Inkinen J, Jayaprakash B, Siponen S, Hokajärvi A-M, Pursiainen A, Ikonen J, Ryzhnikov I, Täubel M, Kauppinen A, Paananen J, Miettinen IT, Torvinen E, Kolehmainen M, Pitkänen T 2019 Active eukaryotes in drinking water distribution systems of ground and surface waterworks doi:10.1186/s40168-019-0715-5

Kapoor V, Pitkänen T, Ryu H, Elk M, Wendell D, Santo Domingo JW 2015 Distribution of humanspecific Bacteroidales and fecal indicator bacteria in an urban watershed impacted by sewage pollution, determined using RNA- and DNA-based quantitative PCR assays. Appl Environ Microbiol 81, 91– 99

Kim SJ, Ahn JH, Lee TH, Weon HY, Hong SB, Seok SJ, Whang KS, Kwon SW 2013 *Reyranella soli* sp. nov., isolated from forest soil, and emended description of the genus *Reyranella* Pagnier et

al. 2011 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63 3164–3167 DOI 10.1099/ijs.0.045922-0

Krieg NR, Ludwig W, Whitman WB, Hedlund BP, Paster BJ, Staley JT, Ward N, Brown D, Parte A (November 24, 2010) [1984(Williams & Wilkins)]. George M. Garrity (ed.). The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 4 (2nd ed.). New York: Springer. p. 908. ISBN 978-0-387-95042-6. British Library no. GBA561951.

Kwon SW, Kim JS, Park IC, Yoon SH, Park DH, Lim CK, Seung JG 2003 *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsungensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea Int J Syst Evol Microbiol 53(Pt 1) 21-27. doi: 10.1099/ijs.0.02326-0

Lehtola MJ, Laxander M, Miettinen IT, Hirvonen A, Vartiainen T, Martikainen PJ 2006 The effects of changing water flow velocity on the formation of biofilms and water quality in pilot distribution system consisting of copper or polyethylene pipes. Water Res 40, 2151– 2160.

Lin W, Yu Z, Zhang H, Thompson IP 2014 Diversity and dynamics of microbial communities at each step of treatment plant for potable water generation. Water Res 52 218– 230.

Liu G, Bakker GL, Li S, Vreeburg, JHG, Verberk, JQJC, Medema GJ, Liu WT, Van Dijk JC Van 2014 Pyrosequencing reveals bacterial communities in unchlorinated drinking water distribution system: an integral study of bulk water, suspended solids, loose deposits, and pipe wall biofilm. Environ Sci Technol 48, 5467– 5476

Louca S, Parfrey LW, Doebeli M 2016 - Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. Science 353:1272-1277

McCamon S. A., Bowman J.P 2000 Taxonomy of Antarctic Flavobacterium species: description of *Flavobacterium gillisiae* sp. nov., *Flavobacterium tegetincola* sp. nov. and *Flavobacterium xanthum* sp. nov., nom. rev. and reclassification of [*Flavobacterium*] *salegens* as *Salegentibacter salegens* gen. nov., comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50, 1055–1063

Nappier SP, Ichida A, Jaglo K, Haugland R, Jones KR 2019 Advancements in mitigating interference in quantitative polymerase chain reaction (qPCR) for microbial water quality monitoring. Sci. Tot.Environment 671 732–740.

Oliver JD 2005 The viable but nonculturable state in bacteria. J Microbiol 43, 93– 100.

Pinel ISM, Moed DH, Vrouwevelde JS, Loosdrecht MCM 2020 Bacterial community dynamics and disinfection impact in cooling water systems, Water Research, 172, 115505 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115505>

Revetta RP, Gomez-Alvarez V, Gerke TL, Curioso C, Santo Domingo JW, Ashbolt NJ 2013, Establishment and early succession of bacterial communities in monochloramine-treated drinking water biofilms FEMS Microbiology Ecology 86(3) 404-414 <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12170>

Rinttilä T., Lyra, A., Krogius-Kurikka L., Palva A. 2011 Real-time analysis of enteric pathogens from fecal samples of irritable bowel syndrome subjects. Gut Pathog 26 3(1):6. doi: 10.1186/1757-4749-3-6.

Tsubouchi T, Koyama S, Mori K, Shimane Y, Usui K, Tokuda M, Tame A, Uematsu K, Maruyama T and Hatada Y 2014 *Brevundimonas denitrificans* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from deep seafloor sediment International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 64 3709–3716 DOI 10.1099/ijs.0.067199-0

Whalen PA, Tracey DR, Duguay J 2019 Adenosine triphosphate (ATP) measurement technology Katko & Höjris (ed) Microbiological sensors for the drinking water industry IWA Publishing Science 240 ss.

Williams KP, Sobral BW, Dickerman AW 2007 Robust Species Tree for the Alphaproteobacteria, Journal of Bacteriology Jun 2007, 189 (13) 4578-4586 DOI: 10.1128/JB.00269-07

World Health Organization AC 2016 Quantitative microbial risk assessment – Application for water safety management. ISBN: 978 92 4 156537 0

Xie C-H, Yokota A 2006 Reclassification of [*Flavobacterium*] *ferrugineum* as *Terrimonas ferruginea* gen. nov., comb. nov., and description of *Terrimonas lutea* sp. nov., isolated from soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56 1117–1121 DOI 10.1099/ijs.0.64115-0

Zhou X, Ahmad JI, van der Hoek JP 2020 Thermal energy recovery from chlorinated drinking water distribution systems: Effect on chlorine and microbial water and biofilm characteristics. Environmental Research 187 109655 <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109655>

