



Salla Hautamäki

JÄTEVEDEN MIKROBIOLOGISET PIKAMÄÄRITYSMENETELMÄT

JÄTEVEDEN MIKROBIOLOGISET PIKAMÄÄRITYSMENETELMÄT

Salla Hautamäki
Opinnäytetyö
Kevät 2012
Laboratorioalan koulutusohjelma
Oulun seudun ammattikorkeakoulu



TIIVISTELMÄ

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Laboratorioalan koulutusohjelma, bioteknologian suuntautumisvaihtoehto

Tekijä: Salla Hautamäki

Opinnäytetyön nimi: Jäteveden mikrobiologiset pikamääritysmenetelmät

Työn ohjaaja: Elsa Kumpulainen

Työn valmistumislukukausi- ja vuosi: Kevät 2012

Sivumäärä: 43 + 10 liitesivua

Tämä opinnäytetyö käsittelee jäteveden bakteerien tutkimusta pikamääritysmenetelmillä. Opinnäytetyössä käytettyjä menetelmiä olivat Colilert, Enterolert, Compact Dry -kuivamaljat sekä 3M Petrifilm -kasvualustat. Pikamääritysmenetelmillä saadaan tulokset jäteveden bakteeripesäkkeiden määrästä 24 tunnissa.

Työn tavoitteena oli selvittää, ovatko Oulun Vedellä tällä hetkellä käytössä olevat menetelmät hyviä vai voisiko joku neljästä jäteveden testauksen menetelmäehdotuksesta olla parempi. Työn kirjallisessa osuudessa selvitettiin, saiko millään jäteveden bakteerien pikamääritysmenetelmäehdotuksella järkeviä tuloksia, kun vertailukohtana oli käytössä oleva menetelmä. Tulosten perusteella laskettiin keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti kaikille määritysmenetelmille. Pikamääritysmenetelmät ovat varsinkin ruuhka-aikoina vartenotettavia vaihtoehtoja jäteveden tutkimiselle.

Työ aloitettiin harjoittelemalla pikamääritysmenetelmien käyttöä. Varsinaisessa kokeellisessa osuudessa testattiin *Escherichia coli* ja koliformisten bakteerien sekä enterobakteerien pikamääritysmenetelmiä rinnakkain. Käytössä oli neljä menetelmää, jotka opinnäytetyön toimeksiantaja oli valinnut markkinoilla olevien pikamääritysmenetelmien joukosta. Kaksi muuta menetelmää ovat Oulun Vedellä käytössä talousveden ja jäteveden tutkimista varten.

Tuloksien perusteella Compact Dry EC- ja 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -kasvualustoja voidaan käyttää *E. coli* -bakteerien ja koliformisten bakteerien tutkimiseen. Enterobakteerien tutkimista varten tarkoitetut Compact Dry ETB- ja 3M Petrifilm Enterobacteriaceae -alustat antoivat liian suuria tuloksia verrattuna Enterolertiin, joten niitä ei voida käyttää.

Asiasanat: Compact Dry, 3M Petrifilm, Colilert, Enterolert, mikrobiologiset pikamääritysmenetelmät

| | |
|---|----|
| SISÄLTÖ | |
| TIIVISTELMÄ | 3 |
| 1 JOHDANTO | 6 |
| 2 TASKILAN JÄTEVEDENPUHDISTAMO | 7 |
| 2.1 Jätevedenpuhdistusprosessi | 8 |
| 2.2 Jäteveden laadunvalvonta | 9 |
| 3 MIKROBIOLOGISET PIKAMÄÄRITYSMENETELMÄT | 11 |
| 3.1 3M Petrifilm™ Count Plates | 11 |
| 3.1.1 3M Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count Plate (EC) | 12 |
| 3.1.2 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plate (EB) | 13 |
| 3.2 Compact Dry | 14 |
| 3.2.1 Compact Dry EC | 15 |
| 3.2.2 Compact Dry ETB | 16 |
| 3.3 Colilert® ja Enterolert® | 17 |
| 3.3.1 Colilert® | 18 |
| 3.3.2 Enterolert® | 19 |
| 4 TYÖN SUORITUS | 21 |
| 4.1 Työn suunnittelu ja esivalmistelu | 21 |
| 4.2 Jätevesinäytteet | 21 |
| 4.3 Näytteiden tutkiminen pikamääritysmenetelmillä | 22 |
| 4.3.1 Colilert® | 22 |
| 4.3.2 Enterolert® | 22 |
| 4.3.3 3M Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count Plates | 23 |
| 4.3.4 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates | 23 |
| 4.3.5 Compact Dry EC | 23 |
| 4.3.6 Compact Dry ETB | 24 |
| 5 TULOKSET | 25 |
| 5.1 <i>E. coli</i> -testeissä saadut tulokset | 26 |
| 5.1.1 Colilert® | 26 |
| 5.1.2 3M Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count Plates | 27 |
| 5.1.3 Compact Dry EC | 28 |
| 5.2 Koliformisten bakteerien testeissä saadut tulokset | 29 |
| 5.2.1 Colilert® | 29 |
| 5.2.2 3M Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count Plates | 30 |
| 5.2.3 Compact Dry EC | 31 |

| | |
|--|----|
| 5.3 Enterobakteerien testeissä saadut tulokset | 32 |
| 5.3.1 Enterolert® | 32 |
| 5.3.2 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates | 33 |
| 5.3.3 Compact Dry ETB | 34 |
| 5.4 Johtopäätökset | 35 |
| 5.4.1 <i>E. colin</i> määrittymenetelmät | 37 |
| 5.4.2 Koliformisten bakteerien määrittymenetelmät | 37 |
| 5.4.3 Enterobakteerien määrittymenetelmät | 37 |
| 6 POHDINTA | 39 |
| LÄHTEET | 40 |
| LIITTEET | 43 |

1 JOHDANTO

Oulun Vesi on vuonna 1902 perustettu kunnallinen vesilaitos, jolla on kaksi vedenpuhdistamoa, toinen Hintassa ja toinen Kurkelanrannassa, ja yksi jätevedenpuhdistamo Taskilassa. Puhdistamoiden tehtäviin kuuluvat talousveden valmistus ja jäteveden puhdistus, laitosten käyttö, kehittäminen ja rakentaminen sekä laboratoriotoinnot. (Oulun Vesi 2010.)

Opinnäytetyön aiheena oli jäteveden mikrobiologiset pikamääritysmenetelmät. Jätevedestä määritetään *E. coli*- ja koliformisia bakteereja sekä enterobakteereja. Pikamääritysmenetelmille on tarvetta jäteveden tutkimisessa, sillä perinteisillä menetelmillä tutkiminen vie useamman vuorokauden. Kaikki testatut mikrobiologiset pikamääritysmenetelmät perustuvat entsyymien ja substraatin väliseen reaktioon. Compact Dry- ja 3M Petrifilm -kasvualustojen värjäytymisen aiheuttaa puolestaan indikaattori.

Opinnäytetyössä testatut pikamääritysmenetelmät, 3M Petrifilm ja Compact Dry, ovat halvempia kuin nykyisin Oulun Vedellä käytössä olevat pikamääritysmenetelmät Colilert ja Enterolert. Kaikki pikamääritysmenetelmät perustuvat entsyymien ja substraatin väliseen reaktioon. Tarkoituksena oli testata voisiko kummallakaan edellä mainituista pikamääritysmenetelmistä korvata talousvesipuolella käytettäviä Colilert- ja Enterolert-menetelmiä. Lisäksi tutustuttiin jätevedenpuhdistusprosessiin ja sen laadunvalvontaan.

2 TASKILAN JÄTEVEDENPUHDISTAMO

Taskilan jätevedenpuhdistamo Oulussa on Pohjois-Suomen suurin ja siellä otettiin vuoden 2011 aikana vastaan yhteensä 14 561 920 m³ jätevettä. Muhokselta johdettiin Taskilaan yhteensä 600 292 m³ jätevettä siirtoviemäriä pitkin. Puhdistetun jäteveden ja ohitusten määrä on esitetty taulukossa 1. (Oulun Vesi 2011, 1.)

TAULUKKO 1. Puhdistetun jäteveden ja ohitusten määrä 2011

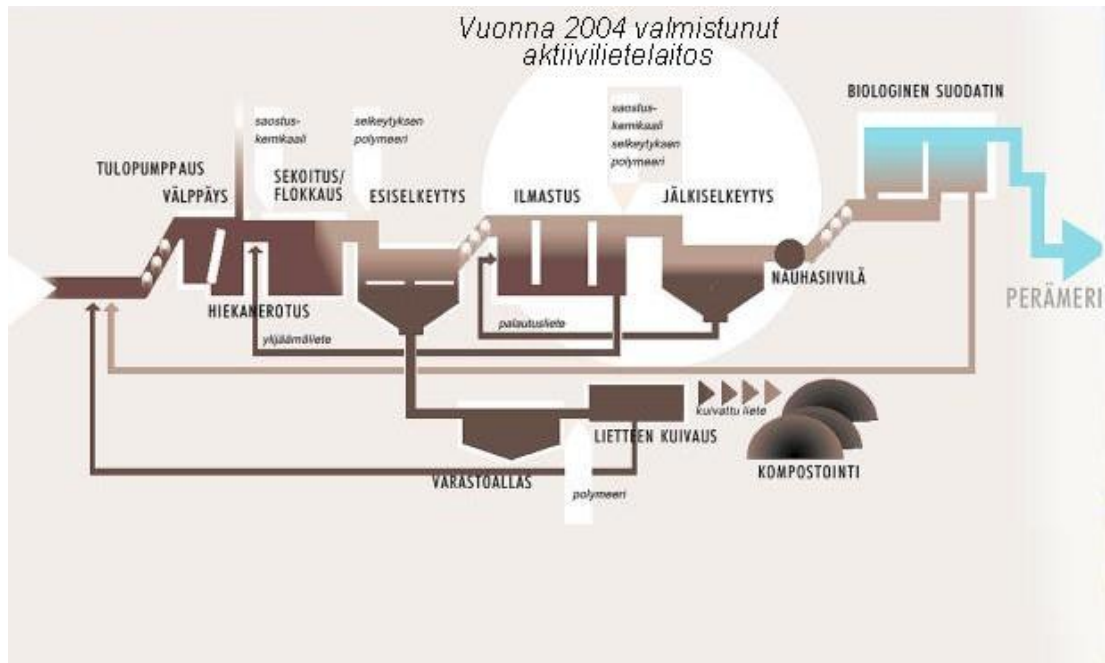
| | Puhdistamo | | | Verkosto |
|-------------|---|--|---|---------------------------------------|
| | Jätevettä puhdistamolle [m ³] | Muhokselta Taskilaan [m ³] | Ohitukset; käsittelymätön [m ³] | Ohitukset; verkosto [m ³] |
| I | 3 259 486 | | - | - |
| II | 3 932 433 | | - | 229 |
| III | 3 682 917 | | 2 992 | 2 227 |
| IV | 3 687 084 | | 375 | 1 193 |
| Yht. | 14 561 920 | 600 292 | 3 367 | 3 649 |

Kesällä 2011 Taskilan ja Nallikarin merialueen edustalla suoritettiin bakteeritarkkailua, koska Nallikarin ranta on niin sanottu EU-ranta eli tiedot uimaveden laadusta raportoidaan Euroopan Unionille. Oulun Veden toimeksiannon perusteella Pöyry Finland Oy tutki merialueen bakteeritiheyksiä elokuussa 2011, sillä Oulun merialueelle epäiltiin päätyvän liian suuria bakteeripitoisuuksia Taskilan jätevedenpuhdistamolta. Näytteitä otettiin päivittäin Nallikarin uimarannalta sekä kerran viikossa kolmen viikon ajan merialueella ja Oulujoen suistossa 12 havaintopaikalta. (Oulun Vesi 2011, 2.)

Oulun Vesi ja Kemira Oyj tulevat kokeilemaan yhdessä lähtevän jäteveden desinfiointia permuurahaishapolla vuoden 2012 toukokuusta elokuuhun. Permuurahaishapolla desinfiointi ei vaadi tertiäärikäsittelyä toisin kuin nykyiset desinfiointimenetelmät ja myös kustannukset jäävät pienemmiksi. Permuurahaishaposta ei jää ekologisesti myrkyllisiä sivutuotteita, mutta voimakkaasti hapettavien kemikaalien käsittely tulee vaatimaan työturvallisuuteen panostamista. (Kemira Oyj 2010, 11.)

2.1 Jätevedenpuhdistusprosessi

Jätevedenpuhdistuksella pyritään ehkäisemään luonnolle ja ihmisille haitallisten aineiden pääsy luontoon. Haitallisia aineita ovat esimerkiksi suolistoperäiset bakteerit sekä kemikaali- ja puhdistusainejäämät. Kuvassa 1 on esitetty jätevedenpuhdistusprosessi.



KUVA 1. Jätevedenpuhdistuksen prosessikaavio (Jätevedenpuhdistuksen prosessikaavio 2012)

Jätevedenpuhdistusprosessissa tehdään ensin esikäsittely eli välppäys, johon tuleva jätevesi nostetaan ruuvipumpuilla. Jätevedessä oleva karkein kiintoaines erotetaan kolmella porrasvälppällä. Välppäyksen jälkeen jätevedelle tehdään rasvan- öljyn ja hiekanerotus. Hiekanerotuksessa ilmastetussa altaassa veden ja hiekan seos laskeutuu altaan pohjalle ja pumpataan hiekanerottimen kautta pois. (Mannermaa 2008, 7–8.)

Hiekanerotuksen jälkeen jätevesi jatkaa flokkausaltaaseen, jossa kiintoainetta sakkautetaan polyalumiinikloridilla ja tarvittaessa polymeerilla sekä sekoitetaan ilmastusaltaista tulevaa ylijäämälietettä ennen esiselkeytystä. Jätevedestä lasketaan kiintoaineet lietteeksi altaan pohjalle, josta se ohjataan

lietetaskuun, joka on altaan pohjalla keskellä. Altaan pohjalta liete pumpataan kuivaukseen. Seuraavaksi jätevesi jatkaa ilmastukseen. (Mannermaa 2008, 8.)

Orgaaninen aines yritetään saada ilmastuksessa pois vedestä mikro-organismeja hyödyntämällä. Ilmastuslautasista, jotka ovat altaan pohjalla, johdetaan ilmaa ilmastusaltaisiin. Mikro-organismit tarvitsevat happea, joten ilmastuksella varmistetaan lietteen kierrätys jälkiselkeytyksestä ilmastusaltaan alkuosaan. (Mannermaa 2008, 8.)

Ilmastusaltaaseen palautettava liete erotetaan jälkiselkeytyksessä. Palautusliete laskeutuu altaan pohjalle, josta se ohjataan altaan keskellä olevaan lietetaskuun. Sen jälkeen se pumpataan ilmastusaltaaseen. Jälkisaostuskemikaalia eli ferrisulfaattia ja tarvittaessa polymeeria käytetään lietteen laskeutumisen parantamiseen. Jätevesi, joka on jälkiselkeytetty, nostetaan ruuvipumpuilla biologiseen suodatukseseen. Biologisessa suodatuksessa erotetaan jälkiselkeytyksestä jäljelle jäänyt kiintoainese neljän metrin paksuisessa lecasorakerroksessa lähtevästä jätevedestä. Laitokselta lähtevä jätevesi jatkaa yhdyskaivoon ja sieltä Perämereen noin kilometrin pituista purkuputkea pitkin. Jätevettä virtaa Taskilan jätevedenpuhdistamolta keskimäärin 40 000 m³ päivittäin. (Mannermaa 2008, 9.)

2.2 Jäteveden laadunvalvonta

Taskilan jätevedenpuhdistamolle johdettavan jäteveden laatua tutkitaan päivittäin Oulun Veden omassa käyttötarkkailulaboratoriossa Hintan vesilaitoksella. Jäteveden laatua täytyy valvoa, sillä Oulun Vedelle myönnetyn ympäristöluvan ehtojen tulee täytyä. Tulokset raportoidaan eteenpäin Pohjois-Pohjanmaan ympäristökeskukselle, joka valvoo viranomaisena Perämereen johdettavan jäteveden laatua. (Jäteveden laadunvalvonta 2012.)

Taskilan jätevedenpuhdistamolla on käytössään Pohjois-Pohjanmaan ympäristökeskuksen hyväksymä laaduntarkkailuohjelma. Jäteveden velvoitetarkkailu teetetään ulkopuolisessa laboratoriossa. Velvoite tarkkailla toiminnan-

harjoittajan vesistöön päästämän kuormituksen määrää ja laatua sekä kuormituksen aiheuttamia vaikutuksia vesistöissä sisältyy toiminnanharjoittajan saamaan ympäristölupapäätökseen. Velvoitetarkkailu- ja käyttötarkkailutulokset sekä muut käyttötiedot raportoidaan valvovalle viranomaiselle kolmen kuukauden välein. Puhdistetun jäteveden laatu kuukausittain vuodelta 2011 on esitetty taulukossa 2. (Oulun Vesi 2012; Pohjois-Pohjanmaan ELY 2012.)

TAULUKKO 2. Puhdistetun jäteveden laatu 2011

| | BOD _{7ATU} Pitoisuus [mg O ₂ /l] | BOD _{7ATU} Puhdistusteho [%] | P _{kok} Pitoisuus [mg P/l] | P _{kok} Puhdistusteho [%] | N _{kok} Pitoi- suus [mg N/l] | N _{kok} Puhdis- tusteho [%] |
|-----------------|--|---|---|--|---|---|
| Tammikuu | 3,5 | 99 | 0,09 | 99 | 48 | 47 |
| Helmikuu | 7,1 | 97 | 0,22 | 98 | 54 | 36 |
| Maaliskuu | 11,2 | 96 | 0,27 | 97 | 54 | 30 |
| Huhtikuu | 10,0 | 96 | 0,25 | 97 | 41 | 23 |
| Toukokuu | 3,6 | 98 | 0,10 | 99 | 42 | 25 |
| Kesäkuu | 24,4 | 88 | 1,20 | 87 | 37 | 27 |
| Heinäkuu | 6,0 | 97 | 0,19 | 98 | 13 | 72 |
| Elokuu | 3,4 | 98 | 0,08 | 99 | 10 | 82 |
| Syyskuu | 3,4 | 99 | 0,12 | 99 | 12 | 80 |
| Lokakuu | 4,4 | 98 | 0,19 | 98 | 17 | 69 |
| Marraskuu | 3,7 | 99 | 0,22 | 98 | 20 | 66 |
| Joulukuu | 3,4 | 99 | 0,13 | 99 | 38 | 34 |
| Ka. 2011 | 7 | 97 | 0,26 | 97 | 32 | 49 |

3 MIKROBIOLOGISET PIKAMÄÄRITYSMENETELMÄT

Oulun Vedellä tällä hetkellä käytössä oleviin Colilert- ja Enterolert-menetelmiin verrattiin neljää muuta mikrobiologista pikamääritysmenetelmää. Nämä olivat Compact Dry ETB, Compact Dry EC, 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform ja 3M Petrifilm Enterobacteriaceae.

3.1 3M Petrifilm™ Count Plates

3M Petrifilm™ Count Plates -tuotevalikoiman on tuonut markkinoille 3M Health Care Limited. Siihen kuuluvat kasvualustat aerobiselle kokonaiskasvustomäärälle, useita kasvualustoja koliformisille bakteereille, enterobakteereille, hiivoille ja homeille sekä *E. colille* ja koliformisille bakteereille. Kasvualustat on suunniteltu elintarviketeollisuutta varten, mutta niillä voidaan tutkia myös nesteitä. Kuvassa 2 on esitetty erilaisia 3M Petrifilm -kasvualustoja. (3M 2012.)



KUVA 2. Erilaisia 3M Petrifilm -kasvualustoja (3M 2012)

Kun näyte on pipetoitu alustalle, levitetään se alustojen mukana tulevalla 3M Petrifilm -levittäjällä, jollainen on kuvassa 3.



KUVA 3. 3M Petrifilm -levittäjä (Wikipedia. 2012, hakusana Petrifilm.)

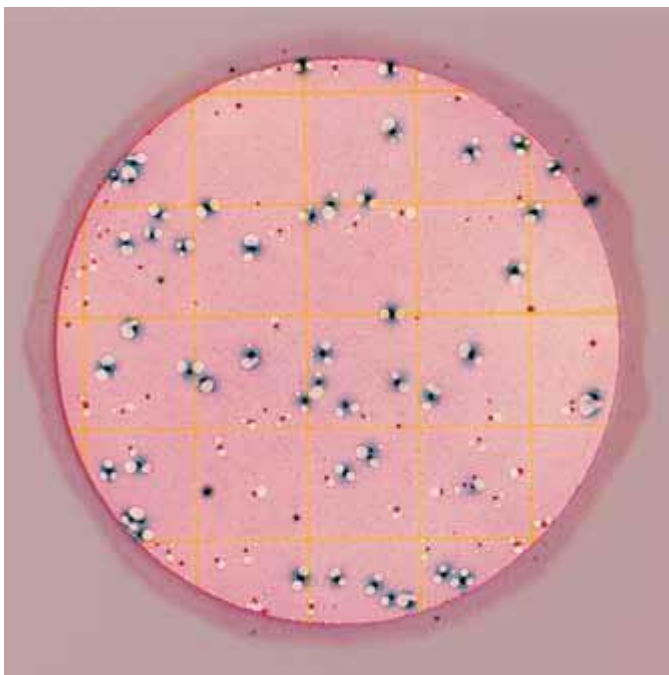
3.1.1 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate (EC)

Petrifilm™ EC -kasvialustat sisältävät VRB-ravinnetta, kylmään veteen liukenevaa hyytelöimisainetta, glukuronidaasi-indikaattorin ja tetrazolium-indikaattorin, joka helpottaa pesäkkeiden laskemista. Päälle tuleva kalvo vangitsee kaasun, joka syntyy, kun koliformiset bakteerit ja *E. coli* käyvät laktoosissa, jolloin maljalla näkyy ilmakuplia. Kalvo auttaa havaitsemaan kaasua muodostavat pesäkkeet. Kasvialustoille pipetoitava nestemäinen näytemäärä on 1 ml. Kalvo lasketaan paikalleen ja näyte levitetään 3M Petrifilm -levittäjällä. Alustoja inkuboidaan 24 ± 2 tuntia lämpötilassa $+35 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ ja tulokset pystytään laskemaan käsin. (3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates 2012.)

E. colit pystyvät kasvamaan VRB-kasvialustalla, jolla on sappea. Useimmat *E. colit* tuottavat β -glukuronidaasia, joka reagoi kasvialustalla olevan 5-bromo-4-chloro-indolyyli- β -D-galaktopyranosiidi-indikaattorin värin kanssa. Tästä johtuen pesäkkeet muuttuvat sinisiksi tai puna-sinisiksi. (3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates 2012.)

Petrifilm EC -kasvialustoilla kasvavat koliformiset bakteerit ovat punaisia ja saattavat muodostaa kaasua. Alustalla kasvavat koliformiset bakteeripesäkkeet tuottavat happoa, joka syventää geelin väriä. Petrifilm EC -kasvialustoilta lasketaan bakteeripesäkkeiden määrä 1 ml:ssa ja kerrotaan

tulos sadalla, jotta saadaan pesäkkeiden määrä 100 ml:ssa. Näin voidaan ilmoittaa määrittelyn tulos ympäristöviranomaisen vaatimalla tavalla MPN/100 ml. Kuvassa 2 on esitetty *E. coli*- ja koliformisia pesäkkeitä Petrifilm -kasvualustalla. (3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates 2012.)



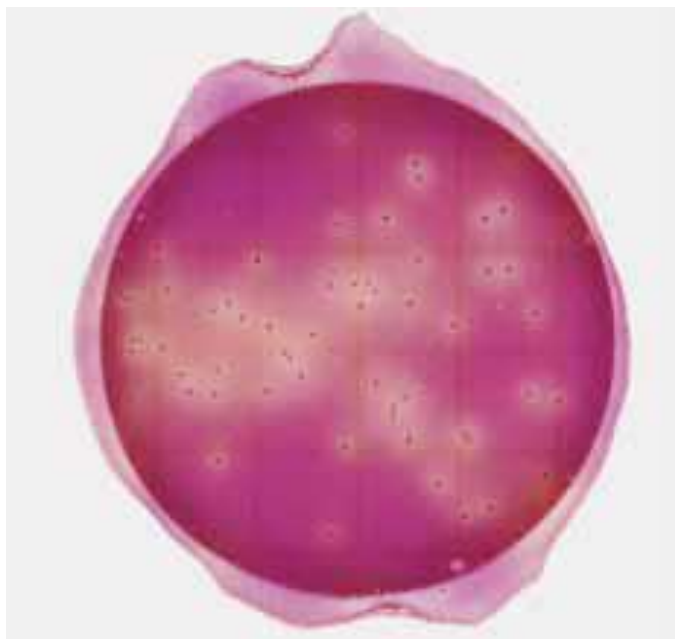
KUVA 4. *E. coli*- ja koliformisia bakteeripesäkkeitä Petrifilm EC - kasvualustalla (3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates 2012)

3.1.2 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plate (EB)

Petrifilm EB -kasvualusta on käyttövalmis kasvualusta, joka sisältää VRB-agarin, hyytelöimisaineen ja tetrazolium-indikaattorin, joka helpottaa pesäkkeiden laskemisessa. Alustalle pipetoidaan 1 ml näytettä, lasketaan kalvo paikalleen ja levitetään näyte 3M Petrifilm -levittäjällä. Alustaa inkuboidaan 24 ± 2 tuntia lämpötilassa $+35 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ ja tulokset pystytään laskemaan käsin. (3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates Oy 2012.)

Enterobakteeripesäkkeet kasvavat alustalla punaisina pesäkkeinä, joiden ympärillä on keltaista. Enterobakteerit, jotka muodostavat kaasua, kasvavat alustalla punaisina pesäkkeinä kaasukuplineen. Tällöin pesäkkeillä voi olla keltainen kehä, joka johtuu enterobakteerien happamuudesta, tai se voi ko-

konaan puuttua. Bakteeripesäkkeiden määrä 1 ml:ssa lasketaan alustalta ja kerrotaan sadalla, jotta saadaan tulos ilmoitettua MPN/100 ml. Pesäkkeiden kasvu näkyy hyvin kuvassa 3. (3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates 2012.)



KUVA 5. Enterokokkipesäkkeitä Petrifilm EB -kasvualustalla (3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates 2012.)

3.2 Compact Dry

Compact Dry on HyServe GmbH & Co. KG.:n kehittämä tuotesarja, johon kuuluu maljat *Bacillus cereukselle*, *E. colille* ja koliformisille bakteereille, hii-voille ja homeille, kokonaispesäkeluvulle ja enterobakteereille. Compact Dry -malja on käyttövalmis kromogeeninen elatusainealusta. Elatusainekalvo on vedetön ja testi tehdään pipetoimalla 1 ml nestemäistä näytettä maljalle, minkä jälkeen maljaa inkuboidaan ohjeen mukaan. Jos näytettä pitää lai-mentaa, on Compact Dry -sarjassa saatavana laimennusteline ja avaaja, jo-ka pitää viinoittaa ja liekittää ennen käyttöä. Laimennustelineeseen kuuluu neljä kaivoa, joissa on kaikissa 9 ml steriiliä puskuriliuosta. Kuvassa 4 on esitetty laimennusteline ja avaaja. (Compact Dry –kuivamaljat 2012.)



KUVA 6. Compact Dry -alustoille pipetoitavien laimennoksien tekoa varten tarkoitettu laimennusteline ja avaaja (Laimennusteline Compact Dry -kuivamaljaa varten 2012)

3.2.1 Compact Dry EC

Compact Dry EC -kuivamalja sisältää kahta kromogeenista entsyymi-substraattia, jotka ovat Magenta-GAL ja X-GLUC. Pesäkkeen väri muodostuu näiden ja redox-indikaattorien avulla. Maljalla kasvavat koliformiset bakteerit erottuvat purppuranvärisinä pesäkkeinä ja *E. coli* sinisinä pesäkkeinä. Koliformisten bakteerien kokonaisluku on siniset ja purppuranväriset pesäkkeet yhteensä. (Compact Dry EC -kuivamalja 2012.)

Maljalle pipetoidaan 1 ml nestemäistä näytettä, minkä jälkeen sitä inkuboidaan 24 tuntia lämpötilassa $+35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, jonka jälkeen tulokset pystyy helposti lukemaan maljalta. Bakteeripesäkkeiden määrä kerrotaan sadalla, jolloin tulokset saadaan esitettyä muodossa MPN/100 ml. Kuvassa 5 esitetään pesäkkeiden kasvua Compact Dry EC -kuivamaljalla. (Compact Dry EC -kuivamalja 2012.)



KUVA 7. E. coli- ja koliformisia bakteeripesäkkeitä Compact Dry EC -kuivamaljalla (Compact Dry EC -kuivamalja 2012)

3.2.2 Compact Dry ETB

Compact Dry ETB on selektiivinen kuivamalja, jonka elatusaineessa on glukosia. Sen avulla havaitaan enterobakteerit ja pystytään määrittelemään pesäkkeiden määrä. Enterobakteeripesäkkeiden väri on punaiseen vivahtava purppura. Maljan substraati auttavat erottamaan enterobakteerit muista bakteereista. Maljalle pipetoidaan näytettä 1 ml ja sitä inkuboidaan 24 ± 2 tuntia lämpötilassa $35 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ lämpökaapissa. Alustalta laskettujen bakteeripesäkkeiden määrä kerrotaan sadalla, jotta saadaan ilmoitettua tulokset muodossa MPN/100 ml. Kuvassa 6 on esitetty enterobakteerien kasvua Compact Dry ETB -kuivamaljalla. (Compact Dry ETB -kuivamalja 2012.)



KUVA 8. Enterobakteeripesäkkeitä Compact Dry ETB -kuivamaljalla (Compact Dry ETB -kuivamalja 2012)

3.3 Colilert® ja Enterolert®

Colilert® ja Enterolert® ovat pikamääritysmenetelmiä, jotka on kehittänyt IDEXX Laboratories -yhtiö. Colilertillä voidaan määrittää vedestä E. colin ja koliformisten bakteerien kokonaismäärää ja Enterolertillä enterobakteerien kokonaismäärää. Molemmilla pikamääritysmenetelmillä saadaan tulokset 24 tunnissa. (Colilert-pikamääritysmenetelmä 2012; Enterolert-pikamääritysmenetelmä 2012.)

Molemmat testit sisältävät Quanti-Tray/2000-näyteliuskat, joissa on 97 kaivoa. Kaivoihin mahtuu yhteensä 100 ml nestemäistä näytettä. Näytteeseen lisätään Colilert- tai Enterolert-reagenssia ennen kuin se kaadetaan liuskalle. Tämän jälkeen liuska asetetaan sille tarkoitetulle kumialustalle ja reunat liimataan Quanti-Tray Sealerillä, jonka läpi liuskoja käytetään. Liuskoja inkuboidaan 24 tuntia +37 °C:ssa. Kuvassa 7 on esitetty Quanti-Tray/2000-

näyteliуска. (Colilert-pikamääritysmenetelmä 2012; Enterolert-pikamääritysmenetelmä 2012.)



KUVA 9. Colilert- ja Enterolert-menetelmiä varten tarkoitettu näyteliуска (Colilert-tarvikelista 2012)

Kuvassa 8 on esitetty Quanti-Tray Sealer, jolla Quanti-Tray/2000-näyteliuskan reunat liimataan, sekä kumialustat, joille liuskat asetetaan reunojen sulkemisen ajaksi.



KUVA 10. Colilert- ja Enterolert-menetelmiä varten tarkoitettu Quanti-Tray Sealer sekä kumialustat (Colilert-tarvikelista 2012)

3.3.1 Colilert®

Colilert käyttää hyväksi Defined Substrate Technology -menetelmää samanaikaiseen *E. coli*- ja koliformisten bakteerien havaitsemiseen. Kaksi ravineindikaattoria, ONPG (orto-nitrofenoligalaktopyranosiidi) ja MUG (4-metyyliumbeliferooni), ovat Colilertissä kaksi pääasiallista hiilen lähdettä.

Nämä kaksi indikaattoria metaboloituvat koliformisten bakteerien β -galaktosidaasi-entsyymin ja *E. coli* β -glukuronidaasi-entsyymin toimesta. (Colilert-pikamääritysmenetelmä 2012.)

Colilert-testissä koliformiset bakteerit sisältävät β -galaktosidaasia, jolla ne metaboloivat orto-nitrofenyyli- β -galaktosidin ja muuttavat sen värin värittömästä keltaiseksi. *E. coli* käyttää β -glukuronidaasia metaboloidakseen MUG:n ja muodostaa fluoresenssia. Koska useimmilla koliformisilla bakteereilla ei ole β -glukuronidaasi-entsyymiä, ne eivät pysty kasvamaan ja vaikuttamaan reaktioon. (Colilert-pikamääritysmenetelmä 2012.)

Colilert-menetelmässä 100 ml näytettä, joka on steriilissä pullossa, lisätään Colilert-reagenssia. Kun Colilert-reagenssi on liuennut näytteeseen, se kaadetaan Quanti-Tray/2000-näyteliuskalle ja suljetaan Quanti-Tray Sealer suljijalaitteella. Näyteliuskaa inkuboidaan +37 °C:ssa 24 tuntia ja värjäytyneet kaivot lasketaan, jotta saadaan selville koliformisten bakteeripesäkkeiden määrä. Sen jälkeen fluoresoivien *E. coli* -bakteeripesäkkeiden määrä lasketaan UV-valon alla. Taulukossa 3 on esitetty Colilertin validointituloksia. (Colilert-pikamääritysmenetelmä 2012.)

TAULUKKO 3. Colilert -menetelmän validointitulokset

| | Tulokset |
|--------------------------------------|---------------|
| Herkkyys | 100 % |
| Spesifisyys | 99 % |
| Väärien positiivisten tulosten osuus | 1 % |
| Väärien negatiivisten tulosten osuus | 0 % |
| Tehokkuus | 99,5 % |
| Selektiivisyys | -0,305 |

3.3.2 Enterolert®

Enterolert perustuu Defined Substrate Technology -menetelmään (määritelty substraattiteknologia) ja se on kehitetty havaitsemaan enterobakteeripesäkkeitä juomavedestä. Kun enterobakteereja on kasvatusliuoksessa, sen ent-

syymit metaboloivat substraatin, joka on spesifinen β -glukosidaasille. Tämän reaktion johdosta kasvatusliuoksen väri muuttuu sinisestä vihreäksi, jolloin voidaan havaita, että enterobakteereja on näytteessä. (Enterolert-pikamääritysmenetelmä 2012.)

Vesinäytteeseen, jota on 100 ml steriilissä pullossa, lisätään Enterolert-reagenssia, sekoitetaan ja annetaan reagenssin liueta näytteeseen. Tämän jälkeen näyte kaadetaan Quanti-Tray/2000-näyteliuskalle ja suljetaan Quanti-Tray Sealer-sulkijalaitteen avulla. Näyteliuskaa inkuboidaan lämpökaapissa +41 °C:ssa 24 tuntia ja seuraavana päivänä lasketaan värjäytyneiden kaivojen määrä. Enterolert-menetelmää varten tarkoitettua taulukosta etsitään montako bakteeripesäkettä on, kun kaivoja on värjäytynyt tietty määrä. Taulukossa 4 on esitetty IDEXX Laboratories -yhtiön Enterolert-menetelmälle tekemiä validointituloksia. (Enterolert-pikamääritysmenetelmä 2012.)

TAULUKKO 4. Enterolert -menetelmän validointitulokset

| | Tulokset |
|--------------------------------------|-------------|
| Herkkyys | 95 % |
| Spesifisyys | 98 % |
| Väärien positiivisten tulosten osuus | 2 % |
| Väärien negatiivisten tulosten osuus | 7 % |
| Tehokkuus | 96 % |
| Selektiivisyys | -0,3 |

4 TYÖN SUORITUS

Työn kokeellinen osuus suoritettiin maaliskuu-toukokuun 2011 aikana Oulun Veden Hintan vedenpuhdistamon laboratoriossa. Kokeellinen osuus toteutettiin ajalla 11.4. - 17.5.2011.

4.1 Työn suunnittelu ja esivalmistelu

Opinnäytetyön kokeellista osuutta alettiin suunnitella maaliskuussa 2011 ja alun perin tarkoituksena oli tutkia bakteerien pesäkemääriä raakavedestä. Opinnäytetyön toimeksiantaja oli tilannut valmiiksi neljä erilaista pikamääritysmenetelmää, joista kaksi oli *E. colin* ja koliformisten bakteerien tutkimista varten ja kaksi enterobakteerien tutkimista varten. Otannaksi arvioitiin riittävän kolmekymmentä raakavesinäytettä, jotka otettaisiin Hintan vedenpuhdistamon raakavesihanasta. Ensimmäisten viljelyjen jälkeen huomattiin ongelma pikamääritysmenetelmien näytemäärässä, joka on 1 ml. Oulun Vesi ilmoittaa tulokset vesitutkimuksista muodossa MPN/100 ml. Jos tuossa 1 ml:ssa kasvaa yksi pesäke, on tulos 100 MPN/100 ml. Tästä syystä raakaveden tutkiminen vaihdettiin jäteveden tutkimiseen.

4.2 Jätevesinäytteet

Kokeellista osuutta varten jätevesinäytteet toimitettiin Taskilan jätevedenpuhdistamolta Hintan vedenpuhdistamolle. Näytteet otettiin lähtevästä jätevedestä ja laimennoksia varten käytettiin pohjavettä, sillä steriili vesi tappaisi lähtevässä jätevedessä olevat bakteerit. Jätevesinäytteestä viljeltiin suora näyte sekä laimennokset 10^{-1} ja 10^{-2} . Alussa kaikista laimennoksista viljeltiin rinnakkaisnäytteet, jotka jätettiin pois, kun huomattiin rinnakkaisnäytteiden antavan samanlaisia tuloksia. Laimennos 10^{-2} sisälsi hyvin vähän bakteeripesäkkeitä, joten se vaihdettiin laimennokseen 20^{-1} (1:20) viidentenä testipäivänä.

4.3 Näytteiden tutkiminen pikamääritysmenetelmillä

Perinteisillä määritysmenetelmillä maljojen inkubointi kestää useamman vuorokauden. Tästä syystä kehitellään pikamääritysmenetelmiä, joilla saadaan tulokset nopeammin ja helposti. Kaikilla testatuilla mikrobiologisilla pikamääritysmenetelmillä saatiin tulokset vuorokaudessa ja niiden käyttö oli helppoa. Colilert- ja Enterolert-menetelmät veivät näistä eniten aikaa.

4.3.1 Colilert®

Colilertiä varten tehtiin lähtevästä jätevedestä laimennokset, joihin lisättiin Colilert-reagenssia. Näytteitä tehtiin jokaista laimennosta varten 100 ml ja reagenssin annettiin liueta, minkä jälkeen näytteet kaadettiin näyteliuskoihin. Näyteliuskat käytettiin Quanti-Tray Sealerin läpi ja laitettiin +36 °C lämpötilaan 24 tunniksi. Seuraavana päivänä laskettiin keltaisten tai kellertävien kaivojen määrä, jolloin saatiin koliformisten bakteerien kokonaismäärä. Liuskoilla olevien fluoresoivien kaivojen määrä laskettiin vielä UV-valon alla, jolloin saatiin *E. colia* sisältävien kaivojen määrä. Colilertin mukana saadun laskentataulukon avulla saatiin tulos bakteerien pesäkkeiden kokonaismäärästä. Taulukko on esitetty liitteessä 1 ja sitä luetaan värjäytyneiden ja fluoresoivien kaivojen määrän perusteella. Tulokset esitettiin muodossa MPN/100 ml.

4.3.2 Enterolert®

Enterolertiä varten tehtiin lähtevästä jätevedestä laimennokset, joihin lisättiin Enterolert-reagenssia. Enterolertissäkin näytemäärä on 100 ml. Reagenssin liuettua kaadettiin näytteet Quanti-Tray/2000-liuskoille ja liimattiin liuskojen reunat Quanti-Tray Sealerillä. Liuskoja inkuboitiin 24 tuntia +41 °C:ssa. Seuraavana päivänä laskettiin sameiden kaivojen määrä, sillä sameissa kaivoissa oli enterokokkipesäkkeitä. Enterolertin pesäkkeiden määrän arviointia varten on oma taulukko, joka on esitetty liitteessä 1. Taulukkoa luetaan

värjäytyneiden kaivojen lukumäärien avulla. Tulokset esitettiin muodossa MPN/100 ml.

4.3.3 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates

Petrifilm *E. coli*/Coliform -alustoja varten tehtiin laimennokset lähtevästä jätevedestä Compact Dry -laimennustelineeseen. Näytteitä pipetoitiin 1 ml jokaiselle alustalle, minkä jälkeen kalvot laskettiin alustan päälle varovasti, ettei ilmaa pääsisi kalvon ja elatusaineen väliin. Alustaa painettiin levittäjällä, jotta näyte leviäisi ympäri alustaa. Tämän jälkeen odotettiin vähintään minuutti, jotta geeli jähmettyisi. Alustoja inkuboitiin 24 tuntia +36 °C:ssa. Seuraavana päivänä *E. coli* ja koliformiset bakteerit laskettiin alustalta niin, että *E. coli* havaittiin sinisinä tai sini-punaisina kaasua muodostavina pesäkkeinä ja koliformiset bakteerit punaisina pesäkkeinä, jotka saattoivat muodostaa kaasua. Tulokset esitettiin muodossa MPN/100 ml.

4.3.4 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates

Petrifilm Enterobacteriaceae -alustoille pipetoitiin 1 ml lähtevästä jätevedestä tehtyjä laimennoksia, jotka olivat Compact Dry -laimennustelineellä. Kalvo laskettiin varovasti alusten päälle ja sitä painettiin levittäjällä. Alustoja inkuboitiin +36 °C:ssa 24 tuntia ja seuraavana päivänä voitiin laskea enterobakteeripesäkkeiden määrä. Enterobakteeripesäkkeet havaittiin punaisina pesäkkeinä, joiden ympärillä saattoi olla kaasua tai keltaista väriä. Tulokset esitettiin muodossa MPN/100 ml.

4.3.5 Compact Dry EC

Compact Dry EC -alustoille pipetoitiin 1 ml jokaista laimennosta, jotka oli tehty lähtevästä jätevedestä Compact Dry -laimennustelineeseen. Alustaan kuuluva kansi laitettiin paikalleen ja odotettiin, että näyte levisi koko alustalle. Alustat käännettiin ylösalaisin ja sitä inkuboitiin 24 tuntia +36 °C:ssa. Pesäkkeet laskettiin alustoilta seuraavana päivänä, jolloin *E. coli* -pesäkkeet havaittiin sinisinä pesäkkeinä ja koliformiset bakteerit purppuranvärisinä. Koli-

formisten bakteerien määrä oli *E. coli*- ja koliformisten bakteerien pesäkkeet yhteensä. Tulokset esitettiin muodossa MPN/100 ml.

4.3.6 Compact Dry ETB

Compact Dry ETB -alustoja varten tehtiin laimennokset Compact Dry -laimennustelineeseen lähtevästä jätevedestä ja jokaista laimennosta pipetoitiin 1 ml alustoille. Kansi laitettiin takaisin paikalleen ja odotettiin näytteen leviämistä koko alustalle, jonka jälkeen alusta käännettiin ylösalaisin. Alustoja inkuboitiin 24 tuntia +36 °C:ssa ja seuraavana päivänä laskettiin punaisen ja purppuran väriset pesäkkeet alustoilta. Tulokset esitettiin muodossa MPN/100 ml.

5 TULOKSET

Tulokset esitetään kolmessa osiossa, joista ensimmäinen on *E. colin* testeissä saadut tulokset, toinen koliformisten bakteerien testeissä saadut tulokset ja kolmas enterobakteerien testeissä saadut tulokset. Kaikkien bakteerien osalta pesäkemäärät saattoivat vaihdella todella paljon päivittäin, joka asettaa haasteita jäteveden bakteerien määrittämiseen. Oletusarvona oli, että Enterolert- ja Colilert-menetelmät antavat oikeat tulokset, joihin neljän muun pikamääritysmenetelmän tuloksia verrataan. Tuloksille laskettiin lisäksi tilastollisilla menetelmillä keskiarvo, suhteellinen hajonta ja variaatioprosentti. Keskiarvo kertoo jokaiselle päivälle erikseen laimennoksilta laskettujen pesäkemäärien keskiarvon. Keskiarvon laskeminen esitetään kaavassa 1.

$$\bar{x} = \frac{\sum (x_1 + x_2 \dots + x_n)}{\sum n}, \quad \text{KAAVA 1}$$

x = laimennoksilta laskettujen bakteeripesäkkeiden määrä

n = laimennosten määrä

Keskimääräistä poikkeamaa odotusarvosta kuvaavan suhteellisen keskihajonnan laskeminen esitetään kaavassa 2.

$$\sigma = \frac{\sum [(x_1 - \bar{x}) + (x_2 - \bar{x}) \dots + (x_n - \bar{x})]}{n-1}, \quad \text{KAAVA 2}$$

x = laimennoksilta laskettujen bakteeripesäkkeiden määrä

\bar{x} = laimennoksilta laskettujen bakteeripesäkkeiden keskiarvo

n = laimennosten määrä

Variaatioprosentti kertoo kuinka monta prosenttia keskihajonta on keskiarvosta, ja sen laskeminen esitetään kaavassa 3.

$$c_v = \frac{\sigma}{\bar{x}}, \quad \text{KAAVA 3}$$

σ = laimennoksilta laskettujen bakteeripesäkkeiden suhteellinen keskihajonta

\bar{x} = laimennoksilta laskettujen bakteeripesäkkeiden keskiarvo

5.1 *E. coli* -testeissä saadut tulokset

E. coli värjäytyy tai fluoresoi jokaisella alustalla eri tavalla kuin koliformiset bakteerit, mikä helpottaa pesäkemäärien laskua. *E. coli* -bakteeripesäkkeiden määrä vaihteli alustojen välillä suuresti johtuen 3M Petrifilm- ja Compact Dry -alustoille pipetoivasta näytteen määrästä. Mikäli 1 ml onnistuu pipetoimaan yhden *E. coli*, on tulos laimennoksen mukaan joko 100, 1000 tai 2000.

5.1.1 Colilert®

Liitteessä 2 on esitetty Colilert -menetelmällä laskettujen *E. coli* pesäkemäärät. Tulosten perusteella laskettiin tilastollisia menetelmiä käyttäen jokaiselle päivälle keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti. Tilastollisten menetelmien tulokset on esitetty taulukossa 5.

TAULUKKO 5. Colilert -menetelmän keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti

| COLILERT | | | |
|----------|------|---------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 1545 | 390 | 25 |
| 12.4. | 2159 | 342 | 16 |
| 13.4. | 2164 | 332 | 15 |
| 14.4. | 1749 | 434 | 25 |
| 15.4. | 1923 | 406 | 21 |
| 19.4. | 2312 | 249 | 11 |
| 26.4. | 670 | 161 | 24 |
| 27.4. | 1481 | 380 | 26 |
| 28.4. | 1352 | 64 | 5 |
| 3.5. | 3133 | 727 | 23 |
| 4.5. | 7555 | 5284 | 70 |
| 5.5. | 6868 | 4846 | 71 |
| 9.5. | 3633 | 1057 | 29 |
| 10.5. | 6131 | 3293 | 54 |
| 11.5. | 5827 | 3018 | 52 |
| 12.5. | 4276 | 2624 | 61 |
| 16.5. | 3037 | 873 | 29 |
| 17.5. | 5292 | 4062 | 77 |

Tulosten perusteella voidaan todeta, että pesäkemäärät vaihtelevat suuresti eri laimennoksien välillä, mutta se on jäteveden bakteerimäärien tutkimuksissa normaalia, kun bakteereja on jätevesinäytteissä todella paljon.

5.1.2 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates

Liitteessä 3 on esitetty 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -alustalta laskettujen bakteeripesäkkeiden määrä välillä 11.4. - 17.5.2011. Taulukossa 6 on esitetty menetelmällä laskettujen pesäkemäärien tuloksista lasketut keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti jokaiselle päivälle erikseen.

TAULUKKO 6. 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -menetelmälle lasketut keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti joka päivälle välillä 11.4. - 17.5.2011

| 3M PETRIFILM | | | |
|--------------|------|------------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 717 | 659 | 92 |
| 12.4. | 767 | 1169 | 152 |
| 13.4. | 717 | 917 | 128 |
| 14.4. | 1400 | 1497 | 107 |
| 15.4. | 1117 | 917 | 82 |
| 19.4. | 1433 | 1250 | 87 |
| 26.4. | 67 | 115 | 173 |
| 27.4. | 967 | 1002 | 104 |
| 28.4. | 300 | 520 | 173 |
| 3.5. | 2033 | 2050 | 101 |
| 4.5. | 6700 | 3045 | 45 |
| 5.5. | 2500 | 1803 | 72 |
| 9.5. | 2433 | 513 | 21 |
| 10.5. | 4133 | 808 | 20 |
| 11.5. | 3167 | 2930 | 93 |
| 12.5. | 2350 | 1909 | 81 |
| 16.5. | 1150 | 1626 | 141 |
| 17.5. | 2850 | 1202 | 42 |

5.1.3 Compact Dry EC

Liitteessä 4 on esitetty Compact Dry EC -kuivamaljalla laskettujen *E. coli* -bakteeripesäkkeiden määrä välillä 11.4. - 17.5.2011. Taulukossa 7 on esitetty tilastollisten menetelmien tulokset, jotka on laskettu *E. coli* -pesäkemäärien perusteella jokaiselle päivälle.

TAULUKKO 7. Compact Dry EC -kuivamaljan pesäkemäärien keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti jokaiselle päivälle välillä 11.4. - 17.5.2011

| COMPACT DRY | | | |
|-------------|------|---------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 267 | 418 | 157 |
| 12.4. | 333 | 413 | 124 |
| 13.4. | 1000 | 837 | 84 |
| 14.4. | 267 | 418 | 157 |
| 15.4. | 400 | 518 | 129 |
| 19.4. | 1133 | 808 | 71 |
| 26.4. | 333 | 577 | 173 |
| 27.4. | 800 | 1058 | 132 |
| 28.4. | 233 | 404 | 173 |
| 3.5. | 1133 | 1026 | 91 |
| 4.5. | 2100 | 2007 | 96 |
| 5.5. | 3200 | 4233 | 132 |
| 9.5. | 833 | 1443 | 173 |
| 10.5. | 2100 | 173 | 8 |
| 11.5. | 2033 | 1704 | 84 |
| 12.5. | 1250 | 354 | 28 |
| 16.5. | 450 | 636 | 141 |
| 17.5. | 750 | 1061 | 141 |

5.2 Koliformisten bakteerien testeissä saadut tulokset

Koliformisten bakteerien pesäkemäärä laskettiin lisäämällä yhteen *E. coli* -pesäkkeiden määrä ja loppujen alustalla kasvavien pesäkkeiden määrä. Koliformisia bakteereja oli välillä niin paljon, että alusta oli värjäytynyt kokonaan.

5.2.1 Colilert®

Colilert-menetelmän bakteerimäärän laskuun käytettävässä taulukossa (liite 1) ei ilmoitettu suurempia tuloksia kuin 2420. Se on suorilla laimennoksilla suurin ilmoitettava bakteerimäärä. Muille laimennoksille saatavat tulokset kerrottiin laimennuskertoimilla 10 ja 20 tai 100, jolloin saatiin suurempia tuloksia kuin 2420. Liitteessä 5 on esitetty koliformisten bakteerien pesäke-

määrä Colilert-menetelmällä laskettuna välille 11.4. - 17.5.2011. Taulukossa 8 on esitetty koliformisten bakteeripesäkkeiden määristä lasketut tilastollisten menetelmien tulokset.

TAULUKKO 8. Colilert -menetelmän koliformisten bakteeripesäkkeiden keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti jokaiselle päivälle välillä 11.4. - 17.5.2011

| COLILERT | | | |
|----------|-------|---------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 6133 | 2889 | 47 |
| 12.4. | 8475 | 4941 | 58 |
| 13.4. | 10863 | 8240 | 76 |
| 14.4. | 6843 | 3574 | 52 |
| 15.4. | 7825 | 5299 | 68 |
| 19.4. | 12985 | 10039 | 77 |
| 26.4. | 2545 | 320 | 13 |
| 27.4. | 3536 | 1096 | 31 |
| 28.4. | 4838 | 2249 | 46 |
| 3.5. | 12520 | 8981 | 72 |
| 4.5. | 17744 | 26542 | 150 |
| 5.5. | 13166 | 18613 | 141 |
| 9.5. | 11037 | 14926 | 135 |
| 10.5. | 2420 | 0 | 0 |
| 11.5. | 2420 | 0 | 0 |
| 12.5. | 2420 | 0 | 0 |
| 16.5. | 2420 | 0 | 0 |
| 17.5. | 2420 | 0 | 0 |

5.2.2 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates

Liitteessä 6 on esitetty 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -alustoilla olleiden koliformisten pesäkkeiden määrät. Taulukossa 9 on esitetty koliformisten bakteerien pesäkemäärien perusteella lasketut keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti.

TAULUKKO 9. 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -menetelmän pesäkemäärien keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti välille 11.4. - 17.5.2011

| 3M PETRIFILM | | | |
|--------------|-------|------------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 3400 | 3014 | 89 |
| 12.4. | 3700 | 3434 | 93 |
| 13.4. | 4217 | 3676 | 87 |
| 14.4. | 4117 | 1448 | 35 |
| 15.4. | 4467 | 3182 | 71 |
| 19.4. | 7600 | 3418 | 45 |
| 26.4. | 500 | 866 | 173 |
| 27.4. | 1500 | 1323 | 88 |
| 28.4. | 2267 | 2411 | 106 |
| 3.5. | 9967 | 5254 | 53 |
| 4.5. | 20567 | 5689 | 28 |
| 5.5. | 20067 | 7925 | 39 |
| 9.5. | 20800 | 5909 | 28 |
| 10.5. | 33367 | 9508 | 28 |
| 11.5. | 34267 | 14867 | 43 |
| 12.5. | 51150 | 12940 | 25 |
| 16.5. | 15300 | 8910 | 58 |
| 17.5. | 51250 | 30052 | 59 |

5.2.3 Compact Dry EC

Liitteessä 7 on esitetty Compact Dry EC -kuivamaljalla saatujen koliformisten bakteerien pesäkemäärien tulokset. Taulukossa 10 on esitetty koliformisten bakteerien pesäkemäärien tuloksien perusteella laskettujen keskiarvon, suhteellisen keskihajonnan ja variaatioprosentin tulokset.

TAULUKKO 10. Compact Dry EC -kuivamaljan koliformisten bakteerien pesäkemäärien keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti ajalle 11.4. - 17.5.2011

| COMPACT DRY | | | |
|-------------|-------|------------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 2317 | 2540 | 110 |
| 12.4. | 5700 | 3692 | 65 |
| 13.4. | 5433 | 2571 | 47 |
| 14.4. | 10550 | 17594 | 167 |
| 15.4. | 3217 | 1749 | 54 |
| 19.4. | 4267 | 1553 | 36 |
| 26.4. | 967 | 1002 | 104 |
| 27.4. | 1100 | 1015 | 92 |
| 28.4. | 2733 | 1270 | 46 |
| 3.5. | 5200 | 2987 | 57 |
| 4.5. | 11567 | 2714 | 23 |
| 5.5. | 9300 | 5474 | 59 |
| 9.5. | 14200 | 5524 | 39 |
| 10.5. | 22533 | 2540 | 11 |
| 11.5. | 25633 | 9306 | 36 |
| 12.5. | 27100 | 5515 | 20 |
| 16.5. | 18700 | 1838 | 10 |
| 17.5. | 30000 | 0 | 0 |

5.3 Enterobakteerien testeissä saadut tulokset

Enterobakteereja kasvoi alustoilla todella paljon. Compact Dry ETB- ja 3M Petrifilm Enterobacteriaceae -alustoilla suorat laimennokset olivat välillä liiankin täynnä pesäkkeitä. Jostain syystä Enterolert ei antanut yhtä suuria tuloksia kuin kaksi muuta menetelmää. Pesäkemäärät Enterolertillä saattoivat olla vain kymmenesosan kahden muun menetelmän pesäkemääristä.

5.3.1 Enterolert®

Liitteessä 8 on esitetty Enterolert-menetelmällä saatujen enterobakteeripesäkkeiden määrät ajalta 11.4. - 17.5.2011.

Taulukossa 11 on esitetty tulokset enterobakteeripesäkemäärien keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti jokaiselle päivälle.

TAULUKKO 11. Enterolert-menetelmän bakteeripesäkemäärien keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti ajalle 11.4.-17.5.2011

| ENTEROLERT | | | |
|------------|------|------------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 517 | 226 | 44 |
| 12.4. | 548 | 169 | 31 |
| 13.4. | 3812 | 2571 | 67 |
| 14.4. | 549 | 153 | 28 |
| 15.4. | 923 | 180 | 20 |
| 19.4. | 1173 | 269 | 23 |
| 26.4. | 490 | 80 | 16 |
| 27.4. | 1184 | 227 | 19 |
| 28.4. | 1055 | 129 | 12 |
| 3.5. | 1935 | 194 | 10 |
| 4.5. | 3414 | 977 | 29 |
| 5.5. | 3523 | 1043 | 30 |
| 9.5. | 2451 | 443 | 18 |
| 10.5. | 3234 | 804 | 25 |
| 11.5. | 3613 | 1108 | 31 |
| 12.5. | 2401 | 27 | 1 |
| 16.5. | 1534 | 282 | 18 |
| 17.5. | 3796 | 1946 | 51 |

5.3.2 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates

Liitteessä 9 on esitetty enterobakteeripesäkkeiden määrät 3M Petrifilm Enterobacteriaceae -alustoille. Taulukossa 12 on esitetty tilastollisten menetelmien tulokset enterobakteeripesäkkeiden määrille.

TAULUKKO 12. 3M Petrifilm Enterobacteriaceae -menetelmän enterobakteeripesäkemäärien keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti ajalle 11.4. - 17.5.2011

| 3M PETRIFILM | | | |
|--------------|-------|---------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 12017 | 6409 | 53 |
| 12.4. | 7933 | 4468 | 56 |
| 13.4. | 12700 | 6754 | 53 |
| 14.4. | 7033 | 4493 | 64 |
| 15.4. | 9033 | 3627 | 40 |
| 19.4. | 14200 | 8057 | 57 |
| 26.4. | 2367 | 2122 | 90 |
| 27.4. | 3800 | 3305 | 87 |
| 28.4. | 4567 | 5335 | 117 |
| 3.5. | 13833 | 5795 | 42 |
| 4.5. | 27867 | 6697 | 24 |
| 5.5. | 34867 | 4272 | 12 |
| 9.5. | 34233 | 404 | 1 |
| 10.5. | 42900 | 12101 | 28 |
| 11.5. | 72633 | 4124 | 6 |
| 12.5. | 77800 | 8202 | 11 |
| 16.5. | 27550 | 3606 | 13 |
| 17.5. | 76600 | 9334 | 12 |

5.3.3 Compact Dry ETB

Liitteessä 10 on esitetty Compact Dry ETB -menetelmällä saatujen enterobakteeripesäkkeiden määrät. Taulukossa 13 on esitetty tilastollisilla menetelmillä saadut keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti Compact Dry ETB -menetelmän enterobakteeripesäkkeiden määrille.

TAULUKKO 13. Compact Dry ETB -menetelmällä saatujen enterobakteeripesäkkeiden määrille lasketut keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja variaatioprosentti ajalle 11.4. - 17.5.2011

| COMPACT DRY | | | |
|-------------|-------|---------------------------|------------|
| PVM | KA | SUHTEELLINEN KESKIHAJONTA | VARIAATIO% |
| 11.4. | 2750 | 2924 | 106 |
| 12.4. | 8983 | 5867 | 65 |
| 13.4. | 5017 | 3573 | 71 |
| 14.4. | 4833 | 1751 | 36 |
| 15.4. | 5183 | 2503 | 48 |
| 19.4. | 7833 | 764 | 10 |
| 26.4. | 733 | 1270 | 173 |
| 27.4. | 2933 | 1007 | 34 |
| 28.4. | 3800 | 1709 | 45 |
| 3.5. | 12767 | 1365 | 11 |
| 4.5. | 19967 | 2627 | 13 |
| 5.5. | 25433 | 6868 | 27 |
| 9.5. | 17367 | 5080 | 29 |
| 10.5. | 27900 | 10693 | 38 |
| 11.5. | 43633 | 10682 | 24 |
| 12.5. | 46300 | 23617 | 51 |
| 16.5. | 16900 | 6930 | 41 |
| 17.5. | 50800 | 4525 | 9 |

5.4 Johtopäätökset

Kaikkia bakteereja tutkittaessa 3M Petrifilm- ja Compact Dry -alustoilta laskettujen bakteeripesäkkeiden määrät vaihtelivat yleisesti ottaen paljon. Jätevesiä tutkittaessa tuhannen tai useamman tuhannen bakteeripesäkemäärän ero laimennosten välillä ei ole mahdollista, jos toisella laimennoksella tulokseksi saa esimerkiksi 10 000 ja toisella 14 000.

Helppokäyttöisin testatuista pikamääritysmenetelmistä oli Compact Dry -kuivamalja. Sitä varten jätevesinäytteestä tarvitsi vain tehdä laimennokset ja pipetoida jokaista 1 ml alustoille. 3M Petrifilm -alustoilla jätevesinäyte levisi hieman kasvualustan yli, kun kalvon asetti paikoilleen. Se vaikeutti pesäkemäärien laskemista varsinkin alustoilla, joille pipetoitiin suorat laimennokset. Colilert- ja Enterolert-pikamääritysmenetelmät eivät nekään

olleet vaikeita käyttää, mutta vei oman aikansa, kun odotti reagenssin liukenemistä. Sen jälkeen näyteliuskat piti vielä sulkea Quanti-Tray-sulkijalaitteella. Colilert- ja Enterolert-näyteliuskoilta oli kuitenkin kaikista helpoin laskea tulokset.

Yksi syy pikamääritysmenetelmien testaukselle oli taloudellisuus. Taulukossa 14 on lueteltu pikamääritysmenetelmien ja niiden käyttöä varten tarkoitettujen tarvikkeiden hinnat. Compact Dry- ja 3M Petrifilm -alustat tilataan Labemalta ja Colilert sekä Enterolert Berner Oy:ltä.

TAULUKKO 14. Pikamääritysmenetelmien hinnat

| | Hinta (€) | Hinta (€/kpl) |
|--|-----------|---------------|
| 3M Petrifilm E. coli/Coliform (50 kpl) | 68,34 | 1,37 |
| 3M Petrifilm Enterobacteriaceae (50 kpl) | 34,68 | 0,69 |
| Compact Dry EC (40 kpl) | 64,00 | 1,60 |
| Compact Dry ETB (40 kpl) | 64,00 | 1,60 |
| Compact Dry -laimennusteline (128 kpl) | 120,00 | 0,94 |
| Compact Dry -laimennustelineen avaaja | 28,00 | - |
| Colilert (200 kpl) | 1581,80 | 7,91 |
| Enterolert (20 kpl) | 169,10 | 8,46 |
| Quanti-Tray/2000 (100 kpl) | 232,15 | 2,32 |
| Quanti-Tray Sealer | 4500,00 | - |

3M Petrifilm -alustat ovat halvimpia, mutta niille ei ole erikseen laimennustelineitä myynnissä. Laimennokset pitäisi tehdä laboratorion omiin astioihin. Compact Dry EC- ja ETB -kuivamaljat ovat suurinpiirtein saman hintaisia, ja niiden mukana voi tilata laimennustelineitä ja avaajan.

Kaikille kasvualustoille on yhteistä se, että ne eivät ole erityisen ekologisia. Kaikki kasvualustat ovat kertakäyttöisiä, joten pesäkkeiden laskemisen jälkeen alustat heitetään pois. Lisäksi Compact Dry -laimennustelineet ovat myös kertakäyttöisiä.

Tilastollisten menetelmien tulokset eivät olleet kovin vakuuttavia minkään menetelmän kohdalla. Jätevedessä bakteerimäärät vaihtelevat niin suuresti verrattuna talousveteen, etteivät keskiarvo, suhteellinen keskihajonta ja vari-

aatioprosentti anna hyvää kuvaa menetelmistä. Seuraavissa osioissa kerrotaan enemmän, millaisia johtopäätöksiä alustoista tehtiin, kun tutkittiin eri bakteereja.

5.4.1 *E. coli* määrittymenetelmät

E. coli -pesäkkeiden määrät vaihtelivat laimennosten ja menetelmien välillä todella paljon. Jossakin laimennoksessa saattoi olla monta tuhatta *E. coli* -pesäkettä, kun toisessa saman päivän laimennoksessa ei kasvanut yhtään. Ongelmana on erityisesti 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform- ja Compact Dry EC -alustoille pipetoitavan näytteen määrä. Kun alustalle pipetoidaan vain 1 ml jätevesinäytettä, pipettiin ei välttämättä satu yhtään *E. coli* -bakteeria.

Colilertissä ongelmia tulee, kun värjäytyneiden kaivojen perusteella arvioidaan liitteessä 2 olevasta Quanti-Tray/2000-taulukosta bakteeripesäkkeiden määrää. Suoralla laimennoksella ilmoitetaan tulos vain muodossa >2420. Bakteeripesäkkeitä saattaa olla moninkertainen määrä. Näytteen käsittelyssä voi olla vikaa, jos esimerkiksi näytettä ei sekoita tarpeeksi ennen pipetointia.

5.4.2 Koliformisten bakteerien määrittymenetelmät

Koliformisia bakteereja tutkittaessa 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform- ja Compact Dry EC -alustat antoivat vähemmän nollatuloksia kuin *E. coli* -pesäkkeitä tutkittaessa. Koliformisten bakteerien nollatulokset johtuvat luultavasti sekoituksesta. Koliformisten bakteerien alustojen välillä ei ollut niin paljon eroa kuin *E. colilla*.

5.4.3 Enterobakteerien määrittymenetelmät

Enterobakteereita tutkittaessa kummastusta herätti, kun 3M Petrifilm Enterobacteriaceae- ja Compact Dry ETB -alustat antoivat kymmenkertaisen tuloksen verrattuna Enterolertiin. Tämän perusteella voisi kuvitella, että Enterolert-menetelmä antaa liian pieniä tuloksia. Kuitenkin Enterolert-

menetelmää käytetään vertailukohteena, joten 3M Petrifilm- ja Compact Dry -alustat antavat liian suuria tuloksia.

6 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää voisiko mikrobiologisia pikamääritysmenetelmiä käyttää jäteveden tutkimiseen. Aihe muuttui alussa raakaveden tutkimisesta jäteveden tutkimiseen, kun huomattiin, etteivät Compact Dry- ja 3M Petrifilm -menetelmät anna lähellekään samoja tuloksia kuin Colilert ja Enterolert. Compact Dry- ja 3M Petrifilm -alustat ovat kapalemäärältään paljon halvempia kuin Colilert- ja Enterolert-menetelmät ja tämä oli yksi syy opinnäytetyön tekemiselle.

Compact Dry -menetelmä oli mikrobiologisista pikamääritysmenetelmistä helppokäyttöisin ja sillä oli helppo laskea tulokset. Lisäksi se on edullinen. Laskemisen kannalta vaikeakäyttöisin oli 3M Petrifilm –kasvualusta. Näytteen valmistelun kannalta Colilert ja Enterolert olivat hankalampia ja veivät eniten aikaa. Pesäkemäärien lasku puolestaan oli helpointa Colilertillä ja Enterolertillä.

Opinnäytetyötä varten asetetut tavoitteet saavutettiin. Jos tulokseksi jätevesiä tutkittaessa riittää suuntaa antava bakteerimäärä, on Compact Dry EC paras testatuista menetelmistä *E. coli*en ja koliformisten bakteerien testausta varten. 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -kasvualustalla saatiin samanlaisia tuloksia, mutta alustan käyttö oli hankalampaa, sillä nestemäinen näyte levisi alustan reunoille. Compact Dry ETB- ja 3M Petrifilm Enterobacteriaceae -menetelmät antoivat aivan liian suuria tuloksia, joten niitä ei voida käyttää jätevesien enterobakteerien testaamiseen.

Työn tekeminen antoi paljon tietoa jätevedestä ja sen puhdistusprosessista sekä vesilaboratoriossa työskentelemisestä. Opinnäytetyö onnistui kohtalaisesti. Oli haastavaa pohtia mitä asioita kertoa opinnäytetyössä ja mitä jättää sen ulkopuolelle. Saatiin myös tutkimustulos, vaikkei se ollutkaan odotusten mukainen. Työ kehitti tekijäänsä ja antoi hyvät eväät työelämää varten.

LÄHTEET

3M 2012. 3M Petrifilm -kasvualustoja. Saatavissa: <http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UF6EVsSyXTtNxf2MXTtEVU6EVs6EVs6EVs6E66666-->. Hakupäivä 8.5.2012.

3M™ Petrifilm™ E. coli/Coliform Count Plates. 2012. Labema Oy. Saatavissa: <http://www.labema.fi/~cRy4x0000001/?Y999=PIF&Y104=C6404>. Hakupäivä 30.4.2012.

3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates. 2012. Labema Oy. Saatavissa: <http://www.labema.fi/~9mavx0000001/?Y999=PIF&Y104=C6420>. Hakupäivä 30.4.2012.

Colilert-tarvikelista. 2012. IDEXX Laboratories. Saatavissa: <http://namerica.idexx.com/publicweb/pubweb/accessories/accessoriesIndividual.jsp?typeid=4&id=2#7>. Hakupäivä 30.4.2012.

Colilert-pikamääritysmenetelmä. 2012. IDEXX Laboratories. Saatavissa: http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/water/colilert.jsf. Hakupäivä 30.4.2012.

Compact Dry -kuivamaljat. 2012. Labema Oy. Saatavissa: <http://www.labema.fi/netta/files/eng/500-20-15.pdf>. Hakupäivä 30.4.2012.

Compact Dry EC -kuivamalja. 2012. HyServe GmbH Co. & KG. Saatavissa: <http://www.hyserve.com/produkt.php?lang=en&gr=1&pr=13>. Hakupäivä 30.4.2012.

Compact Dry ETB -kuivamalja. 2012. HyServe GmbH Co. & KG. Saatavissa: <http://www.hyserve.com/produkt.php?lang=en&gr=1&pr=218>. Hakupäivä 30.4.2010.

Enterolert-pikamääritysmenetelmä. 2012. IDEXX Laboratories. Saatavissa: http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/water/enterolert.jsf. Hakupäivä 30.4.2012.

Enterolert-pikamääritysmenetelmän validointi. 2012. IDEXX Laboratories. Saatavissa: http://www.idexx.com/pubwebresources/pdf/en_us/water/8980-01-enterolert-dw-validation-report-final.pdf. Hakupäivä 8.5.2012.

Jäteveden laadunvalvonta. 2012. Oulun Vesi. Saatavissa: <http://www.oulunvesi.fi/laadunvalvonta.htm>. Hakupäivä 22.4.2012.

Jätevedenpuhdistuksen prosessikaavio. 2012. Oulun Vesi. Saatavissa: <http://www.oulunvesi.fi/prosessikaavio1.htm>. Hakupäivä 22.4.2012.

Laimennusteline Compact Dry -kuivamaljaa varten. 2012. HyServe GmbH Co. & KG. Saatavissa: <http://www.hyserve.com/produkt.php?lang=en&gr=1&pr=224>. Hakupäivä: 30.4.2012.

Kemira Oyj 2010. Waternet 2/10. Saatavissa: http://www.kemira.com/SiteCollectionDocuments/Media/Magazines/Waternet/Waternet_01_2010.pdf. Hakupäivä 30.4.2012.

Mannermaa, Henna 2008. Mikrobin määritys jätevedestä ja lietteestä sekä lähtevän jäteveden desinfiointi. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu, laboratorioalan koulutusohjelma. Opinnäytetyö.

Oulun Vesi 2010. Henkilöstöopas. Sisäinen dokumentti. Oulun Vesi.

Oulun Vesi 2011. Oulun Vesi -liikelaitoksen Taskilan jätevedenpuhdistamon vuosiraportti 2011.

Pohjois-Pohjanmaan ELY 2012. Velvoitetarkkailu. Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=64905>. Hakupäivä 22.4.2012.

Wikipedia. 2012. Vapaa tietosanakirja. Saatavissa: <http://en.wikipedia.org>.
Hakupäivä 8.5.2012.

LIITTEET

- Liite 1. Colilert- ja Enterolert-menetelmille tarkoitettu laskentataulukko
- Liite 2. Colilert-menetelmän *E. coli* -pesäkemäärät
- Liite 3. 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -menetelmän *E. coli* -pesäkemäärät
- Liite 4. Compact Dry EC -kuivamaljan *E.coli* -pesäkemäärät
- Liite 5. Colilert-menetelmän koliformisten bakteerien pesäkemäärät
- Liite 6. 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform -menetelmän koliformisten bakteerien pesäkemäärät
- Liite 7. Compact Dry EC -menetelmän koliformisten bakteerien pesäkemäärät
- Liite 8. Enterolert-menetelmän enterobakteerien pesäkemäärät
- Liite 9. 3M Petrifilm Enterobacteriaceae -menetelmän enterobakteerien pesäkemäärät
- Liite 10. Compact Dry ETB -menetelmän enterobakteerien pesäkemäärät

QUANTI-TRAY/2000-KAIVOJEN PESÄKEMÄÄRIEN ARVIINTITAU LUKKO

INDEX Quanti-Tray /2000 MPN Table

| Large Well Positive | Small Wells Positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| 0 | <1 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.0 | 8.0 | 9.0 | 10.0 | 11.0 | 12.0 | 13.0 | 14.1 | 15.1 | 16.1 | 17.1 | 18.1 | 19.1 | 20.2 | 21.2 | 22.2 | 23.2 | 24.3 |
| 1 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.1 | 8.1 | 9.1 | 10.1 | 11.1 | 12.1 | 13.2 | 14.2 | 15.2 | 16.2 | 17.2 | 18.2 | 19.2 | 20.3 | 21.3 | 22.3 | 23.3 | 24.4 | |
| 2 | 2.0 | 3.0 | 4.1 | 5.1 | 6.1 | 7.1 | 8.1 | 9.2 | 10.2 | 11.2 | 12.2 | 13.3 | 14.3 | 15.3 | 16.3 | 17.3 | 18.3 | 19.3 | 20.4 | 21.4 | 22.4 | 23.4 | 24.5 | | |
| 3 | 3.1 | 4.1 | 5.1 | 6.1 | 7.2 | 8.2 | 9.2 | 10.3 | 11.3 | 12.3 | 13.4 | 14.4 | 15.4 | 16.4 | 17.4 | 18.4 | 19.4 | 20.5 | 21.5 | 22.5 | 23.5 | 24.6 | 25.6 | | |
| 4 | 4.1 | 5.2 | 6.2 | 7.2 | 8.3 | 9.3 | 10.4 | 11.4 | 12.4 | 13.5 | 14.5 | 15.5 | 16.5 | 17.5 | 18.5 | 19.5 | 20.6 | 21.6 | 22.6 | 23.6 | 24.7 | 25.7 | 26.7 | | |
| 5 | 5.2 | 6.3 | 7.3 | 8.4 | 9.4 | 10.4 | 11.5 | 12.5 | 13.5 | 14.6 | 15.6 | 16.6 | 17.6 | 18.6 | 19.6 | 20.7 | 21.7 | 22.7 | 23.7 | 24.8 | 25.8 | 26.8 | 27.8 | | |
| 6 | 6.3 | 7.4 | 8.4 | 9.5 | 10.5 | 11.5 | 12.6 | 13.6 | 14.6 | 15.6 | 16.7 | 17.7 | 18.7 | 19.7 | 20.8 | 21.8 | 22.8 | 23.8 | 24.9 | 25.9 | 26.9 | 27.9 | 28.9 | | |
| 7 | 7.5 | 8.5 | 9.5 | 10.7 | 11.8 | 12.8 | 13.8 | 14.8 | 15.8 | 16.8 | 17.8 | 18.8 | 19.8 | 20.9 | 21.9 | 22.9 | 23.9 | 24.9 | 25.9 | 26.9 | 27.9 | 28.9 | 29.9 | | |
| 8 | 8.6 | 9.7 | 10.8 | 11.9 | 13.0 | 14.1 | 15.2 | 16.3 | 17.4 | 18.5 | 19.6 | 20.7 | 21.8 | 22.9 | 24.1 | 25.2 | 26.3 | 27.4 | 28.5 | 29.6 | 30.7 | 31.8 | 32.9 | | |
| 9 | 9.8 | 10.9 | 12.0 | 13.1 | 14.2 | 15.3 | 16.4 | 17.5 | 18.6 | 19.7 | 20.8 | 21.9 | 23.0 | 24.1 | 25.2 | 26.3 | 27.4 | 28.5 | 29.6 | 30.7 | 31.8 | 32.9 | 34.0 | | |
| 10 | 11.0 | 12.1 | 13.2 | 14.3 | 15.4 | 16.5 | 17.6 | 18.7 | 19.8 | 20.9 | 22.0 | 23.1 | 24.2 | 25.3 | 26.4 | 27.5 | 28.6 | 29.7 | 30.8 | 31.9 | 33.0 | 34.1 | 35.2 | | |
| 11 | 12.2 | 13.4 | 14.5 | 15.6 | 16.7 | 17.8 | 18.9 | 20.0 | 21.1 | 22.2 | 23.3 | 24.4 | 25.5 | 26.6 | 27.7 | 28.8 | 29.9 | 31.0 | 32.1 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | | |
| 12 | 13.5 | 14.8 | 16.1 | 17.4 | 18.7 | 19.9 | 21.2 | 22.5 | 23.8 | 25.1 | 26.4 | 27.7 | 29.0 | 30.3 | 31.6 | 32.9 | 34.2 | 35.5 | 36.8 | 38.1 | 39.4 | 40.7 | 42.0 | | |
| 13 | 14.8 | 16.0 | 17.1 | 18.3 | 19.5 | 20.6 | 21.8 | 23.0 | 24.2 | 25.4 | 26.6 | 27.8 | 29.0 | 30.2 | 31.4 | 32.6 | 33.8 | 35.0 | 36.2 | 37.4 | 38.6 | 39.8 | 41.0 | | |
| 14 | 16.1 | 17.3 | 18.5 | 19.7 | 20.9 | 22.1 | 23.3 | 24.5 | 25.7 | 26.9 | 28.1 | 29.3 | 30.5 | 31.7 | 32.9 | 34.1 | 35.3 | 36.5 | 37.7 | 38.9 | 40.1 | 41.3 | 42.5 | | |
| 15 | 17.5 | 18.7 | 19.9 | 21.1 | 22.3 | 23.5 | 24.7 | 25.9 | 27.1 | 28.3 | 29.5 | 30.7 | 31.9 | 33.1 | 34.3 | 35.5 | 36.7 | 37.9 | 39.1 | 40.3 | 41.5 | 42.7 | 43.9 | | |
| 16 | 18.9 | 20.1 | 21.3 | 22.5 | 23.7 | 24.9 | 26.1 | 27.3 | 28.5 | 29.7 | 30.9 | 32.1 | 33.3 | 34.5 | 35.7 | 36.9 | 38.1 | 39.3 | 40.5 | 41.7 | 42.9 | 44.1 | 45.3 | | |
| 17 | 20.3 | 21.6 | 22.8 | 24.1 | 25.3 | 26.6 | 27.8 | 29.1 | 30.3 | 31.5 | 32.8 | 34.0 | 35.2 | 36.4 | 37.6 | 38.8 | 40.0 | 41.2 | 42.4 | 43.6 | 44.8 | 46.0 | 47.2 | | |
| 18 | 21.8 | 23.1 | 24.3 | 25.6 | 26.9 | 28.1 | 29.4 | 30.7 | 32.0 | 33.3 | 34.6 | 35.9 | 37.2 | 38.5 | 39.8 | 41.1 | 42.4 | 43.7 | 45.0 | 46.3 | 47.6 | 48.9 | 50.2 | | |
| 19 | 23.3 | 24.6 | 25.9 | 27.2 | 28.5 | 29.8 | 31.1 | 32.4 | 33.7 | 35.0 | 36.3 | 37.6 | 38.9 | 40.2 | 41.5 | 42.8 | 44.1 | 45.4 | 46.7 | 48.0 | 49.3 | 50.6 | 51.9 | | |
| 20 | 24.8 | 26.1 | 27.4 | 28.7 | 30.0 | 31.3 | 32.6 | 33.9 | 35.2 | 36.5 | 37.8 | 39.1 | 40.4 | 41.7 | 43.0 | 44.3 | 45.6 | 46.9 | 48.2 | 49.5 | 50.8 | 52.1 | 53.4 | | |
| 21 | 26.5 | 27.9 | 29.2 | 30.5 | 31.8 | 33.1 | 34.4 | 35.7 | 37.0 | 38.3 | 39.6 | 40.9 | 42.2 | 43.5 | 44.8 | 46.1 | 47.4 | 48.7 | 50.0 | 51.3 | 52.6 | 53.9 | 55.2 | | |
| 22 | 28.2 | 29.5 | 30.9 | 32.2 | 33.5 | 34.8 | 36.1 | 37.4 | 38.7 | 40.0 | 41.3 | 42.6 | 43.9 | 45.2 | 46.5 | 47.8 | 49.1 | 50.4 | 51.7 | 53.0 | 54.3 | 55.6 | 56.9 | | |
| 23 | 29.9 | 31.3 | 32.7 | 34.1 | 35.4 | 36.7 | 38.0 | 39.3 | 40.6 | 41.9 | 43.2 | 44.5 | 45.8 | 47.1 | 48.4 | 49.7 | 51.0 | 52.3 | 53.6 | 54.9 | 56.2 | 57.5 | 58.8 | | |
| 24 | 31.7 | 33.1 | 34.5 | 35.9 | 37.3 | 38.6 | 40.0 | 41.3 | 42.6 | 43.9 | 45.2 | 46.5 | 47.8 | 49.1 | 50.4 | 51.7 | 53.0 | 54.3 | 55.6 | 56.9 | 58.2 | 59.5 | 60.8 | | |
| 25 | 33.6 | 35.0 | 36.4 | 37.8 | 39.1 | 40.4 | 41.7 | 43.0 | 44.3 | 45.6 | 46.9 | 48.2 | 49.5 | 50.8 | 52.1 | 53.4 | 54.7 | 56.0 | 57.3 | 58.6 | 59.9 | 61.2 | 62.5 | | |
| 26 | 35.5 | 36.9 | 38.3 | 39.7 | 41.0 | 42.3 | 43.6 | 44.9 | 46.2 | 47.5 | 48.8 | 50.1 | 51.4 | 52.7 | 54.0 | 55.3 | 56.6 | 57.9 | 59.2 | 60.5 | 61.8 | 63.1 | 64.4 | | |
| 27 | 37.4 | 38.9 | 40.4 | 41.8 | 43.2 | 44.5 | 45.8 | 47.1 | 48.4 | 49.7 | 51.0 | 52.3 | 53.6 | 54.9 | 56.2 | 57.5 | 58.8 | 60.1 | 61.4 | 62.7 | 64.0 | 65.3 | 66.6 | | |
| 28 | 39.5 | 41.0 | 42.4 | 43.8 | 45.1 | 46.4 | 47.7 | 49.0 | 50.3 | 51.6 | 52.9 | 54.2 | 55.5 | 56.8 | 58.1 | 59.4 | 60.7 | 62.0 | 63.3 | 64.6 | 65.9 | 67.2 | 68.5 | | |
| 29 | 41.7 | 43.2 | 44.6 | 46.0 | 47.4 | 48.8 | 50.1 | 51.4 | 52.7 | 54.0 | 55.3 | 56.6 | 57.9 | 59.2 | 60.5 | 61.8 | 63.1 | 64.4 | 65.7 | 67.0 | 68.3 | 69.6 | 70.9 | | |
| 30 | 43.9 | 45.5 | 47.1 | 48.7 | 50.2 | 51.7 | 53.2 | 54.7 | 56.1 | 57.6 | 59.0 | 60.5 | 61.9 | 63.3 | 64.7 | 66.1 | 67.5 | 68.9 | 70.3 | 71.7 | 73.1 | 74.5 | 75.9 | | |
| 31 | 46.2 | 47.9 | 49.5 | 51.2 | 52.8 | 54.4 | 56.0 | 57.6 | 59.1 | 60.6 | 62.1 | 63.6 | 65.0 | 66.5 | 68.0 | 69.4 | 70.9 | 72.3 | 73.8 | 75.2 | 76.6 | 78.0 | 79.4 | | |
| 32 | 48.7 | 50.4 | 52.1 | 53.8 | 55.5 | 57.2 | 58.9 | 60.5 | 62.2 | 63.8 | 65.4 | 67.0 | 68.6 | 70.2 | 71.8 | 73.4 | 75.0 | 76.6 | 78.2 | 79.8 | 81.4 | 83.0 | 84.6 | | |
| 33 | 51.2 | 53.0 | 54.8 | 56.6 | 58.4 | 60.2 | 62.0 | 63.8 | 65.5 | 67.3 | 69.0 | 70.8 | 72.5 | 74.3 | 76.0 | 77.8 | 79.5 | 81.2 | 82.9 | 84.6 | 86.3 | 88.0 | 89.7 | | |
| 34 | 53.9 | 55.7 | 57.6 | 59.4 | 61.3 | 63.1 | 64.9 | 66.7 | 68.5 | 70.3 | 72.1 | 73.9 | 75.7 | 77.5 | 79.3 | 81.1 | 82.9 | 84.7 | 86.5 | 88.3 | 90.1 | 91.9 | 93.7 | | |
| 35 | 56.8 | 58.6 | 60.5 | 62.4 | 64.3 | 66.1 | 68.0 | 69.8 | 71.6 | 73.4 | 75.2 | 77.0 | 78.8 | 80.6 | 82.4 | 84.2 | 86.0 | 87.8 | 89.6 | 91.4 | 93.2 | 95.0 | 96.8 | | |
| 36 | 59.8 | 61.7 | 63.7 | 65.7 | 67.7 | 69.6 | 71.5 | 73.4 | 75.3 | 77.2 | 79.1 | 81.0 | 82.8 | 84.6 | 86.5 | 88.3 | 90.1 | 91.9 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.1 | 100.9 | | |
| 37 | 62.9 | 65.0 | 67.0 | 69.1 | 71.2 | 73.2 | 75.2 | 77.1 | 79.1 | 81.0 | 82.9 | 84.8 | 86.7 | 88.6 | 90.5 | 92.4 | 94.3 | 96.2 | 98.1 | 100.0 | 101.9 | 103.8 | 105.7 | | |
| 38 | 66.2 | 68.4 | 70.6 | 72.7 | 74.9 | 77.1 | 79.3 | 81.4 | 83.5 | 85.6 | 87.7 | 89.8 | 91.9 | 93.9 | 95.9 | 97.9 | 99.9 | 101.9 | 103.9 | 105.9 | 107.9 | 109.9 | 111.9 | | |
| 39 | 70.0 | 72.2 | 74.4 | 76.7 | 78.9 | 81.1 | 83.3 | 85.5 | 87.7 | 89.9 | 92.1 | 94.3 | 96.5 | 98.7 | 100.9 | 103.1 | 105.3 | 107.5 | 109.7 | 111.9 | 114.1 | 116.3 | 118.5 | | |
| 40 | 73.8 | 76.2 | 78.5 | 80.9 | 83.2 | 85.5 | 87.8 | 90.1 | 92.4 | 94.7 | 97.0 | 99.3 | 101.6 | 103.9 | 106.2 | 108.5 | 110.8 | 113.1 | 115.4 | 117.7 | 120.0 | 122.3 | 124.6 | | |
| 41 | 78.0 | 80.5 | 83.0 | 85.5 | 88.0 | 90.5 | 93.0 | 95.5 | 98.0 | 100.5 | 103.0 | 105.5 | 108.0 | 110.5 | 113.0 | 115.5 | 118.0 | 120.5 | 123.0 | 125.5 | 128.0 | 130.5 | 133.0 | | |
| 42 | 82.8 | 85.2 | 87.6 | 90.0 | 92.4 | 94.8 | 97.2 | 99.6 | 102.0 | 104.4 | 106.8 | 109.2 | 111.6 | 114.0 | 116.4 | 118.8 | 121.2 | 123.6 | 126.0 | 128.4 | 130.8 | 133.2 | 135.6 | | |
| 43 | 87.8 | 90.4 | 92.9 | 95.4 | 97.9 | 100.4 | 102.9 | 105.4 | 107.9 | 110.4 | 112.9 | 115.4 | 117.9 | 120.4 | 122.9 | 125.4 | 127.9 | 130.4 | 132.9 | 135.4 | 137.9 | 140.4 | 142.9 | | |
| 44 | 93.1 | 95.7 | 98.3 | 100.9 | 103.5 | 106.1 | 108.7 | 111.3 | 113.9 | 116.5 | 119.1 | 121.7 | 124.3 | 126.9 | 129.5 | 132.1 | 134.7 | 137.3 | 139.9 | 142.5 | 145.1 | 147.7 | 150.3 | | |
| 45 | 98.5 | 102.2 | 105.9 | 109.6 | 113.3 | 117.0 | 120.7 | 124.4 | 128.1 | 131.8 | 135.5 | 139.2 | 142.9 | 146.6 | 150.3 | 154.0 | 157.7 | 161.4 | 165.1 | 168.8 | 172.5 | 176.2 | 179.9 | | |
| 46 | 104.3 | 108.8 | 113.4 | 117.9 | 122.5 | 127.0 | 131.5 | 136.0 | 140.5 | 145.0 | 149.5 | 154.0 | 158.5 | 163.0 | 167.5 | 172.0 | 176.5 | 181.0 | 185.5 | 190.0 | 194.5 | 199.0 | 203.5 | | |
| 47 | 111.5 | 116.5 | 121.5 | 126.5 | 131.5 | 136.5 | 141.5 | 146.5 | 151.5 | 156.5 | 161.5 | 166.5 | 171.5 | 176.5 | 181.5 | 186.5 | 191.5 | 196.5 | 201.5 | 206.5 | 211.5 | 216.5 | 221.5 | | |
| 48 | 119.8 | 125.4 | 131.0 | 136.6 | 142.2 | 147.8 | 153.4 | 159.0 | 164.6 | 170.2 | 175.8 | 181.4 | 187.0 | 192.6 | 198.2 | 203.8 | 209.4 | 215.0 | 220.6 | 226.2 | 231.8 | 237.4 | 243.0 | | |
| 49 | 129.3 | 135.9 | 142.5 | 149.1 | 155.7 | 162.3 | 168.9 | 175.5 | 182.1 | 188.7 | 195.3 | 201.9 | 208.5 | 215.1 | 221.7 | 228.3 | 234.9 | 241.5 | 248.1 | 254.7 | 261.3 | 267.9 | 274.5 | | |

Quanti-Tray is a trademark of IDEXX Laboratories, Inc. in the United States and other countries. Covered by U.S. Patent Nos. 5,428,985; 5,518,992; Other patents pending.

QUANTI-TRAY/2000-KAIVOJEN PESÄKEMÄÄRIEN ARVIINTITAU LUKKO

LIITE 1/2

IDEXX Quanti-Tray/2000 MPN Table

| # Large Wells Positive | # Small Wells Positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 |
| 0 | 25.3 | 26.4 | 27.4 | 28.4 | 29.5 | 30.5 | 31.5 | 32.6 | 33.6 | 34.7 | 35.7 | 36.8 | 37.8 | 38.9 | 40.0 | 41.0 | 42.1 | 43.1 | 44.2 | 45.3 | 46.3 | 47.4 | 48.5 | 49.5 |
| 1 | 26.6 | 27.7 | 28.8 | 29.8 | 30.8 | 31.9 | 32.9 | 34.0 | 35.0 | 36.1 | 37.2 | 38.2 | 39.3 | 40.4 | 41.4 | 42.5 | 43.6 | 44.7 | 45.7 | 46.8 | 47.9 | 49.0 | 50.1 | 51.2 |
| 2 | 27.9 | 29.0 | 30.0 | 31.1 | 32.2 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | 37.5 | 38.6 | 39.7 | 40.8 | 41.9 | 43.0 | 44.1 | 45.1 | 46.2 | 47.3 | 48.4 | 49.5 | 50.6 | 51.7 | 52.8 |
| 3 | 29.3 | 30.4 | 31.4 | 32.5 | 33.6 | 34.7 | 35.8 | 36.8 | 37.9 | 39.0 | 40.1 | 41.2 | 42.3 | 43.4 | 44.5 | 45.6 | 46.7 | 47.8 | 48.9 | 50.0 | 51.1 | 52.2 | 53.3 | 54.4 |
| 4 | 30.7 | 31.8 | 32.8 | 33.9 | 35.0 | 36.1 | 37.2 | 38.3 | 39.4 | 40.5 | 41.6 | 42.8 | 43.9 | 45.0 | 46.1 | 47.2 | 48.3 | 49.5 | 50.6 | 51.7 | 52.8 | 54.0 | 55.1 | 56.3 |
| 5 | 32.1 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | 37.6 | 38.7 | 39.9 | 41.0 | 42.1 | 43.2 | 44.4 | 45.5 | 46.6 | 47.7 | 48.9 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.5 | 54.6 | 55.8 | 56.9 | 58.1 |
| 6 | 33.5 | 34.7 | 35.8 | 36.9 | 38.0 | 39.2 | 40.3 | 41.4 | 42.6 | 43.7 | 44.8 | 46.0 | 47.1 | 48.3 | 49.4 | 50.6 | 51.7 | 52.9 | 54.1 | 55.2 | 56.4 | 57.6 | 58.7 | 59.9 |
| 7 | 35.0 | 36.2 | 37.3 | 38.4 | 39.6 | 40.7 | 41.9 | 43.0 | 44.2 | 45.3 | 46.5 | 47.7 | 48.8 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.5 | 54.7 | 55.9 | 57.1 | 58.3 | 59.4 | 60.6 | 61.8 |
| 8 | 36.6 | 37.7 | 38.9 | 40.0 | 41.2 | 42.3 | 43.5 | 44.7 | 45.9 | 47.0 | 48.2 | 49.4 | 50.6 | 51.8 | 53.0 | 54.1 | 55.3 | 56.5 | 57.7 | 59.0 | 60.2 | 61.4 | 62.6 | 63.8 |
| 9 | 38.1 | 39.3 | 40.5 | 41.6 | 42.8 | 44.0 | 45.2 | 46.4 | 47.6 | 48.8 | 50.0 | 51.2 | 52.4 | 53.6 | 54.8 | 56.0 | 57.2 | 58.4 | 59.7 | 60.9 | 62.1 | 63.4 | 64.6 | 65.8 |
| 10 | 39.7 | 40.9 | 42.1 | 43.3 | 44.5 | 45.7 | 46.9 | 48.1 | 49.3 | 50.6 | 51.8 | 53.0 | 54.2 | 55.5 | 56.7 | 57.9 | 59.2 | 60.4 | 61.7 | 62.9 | 64.2 | 65.4 | 66.7 | 67.9 |
| 11 | 41.4 | 42.6 | 43.8 | 45.0 | 46.3 | 47.5 | 48.7 | 49.9 | 51.2 | 52.4 | 53.6 | 54.9 | 56.1 | 57.4 | 58.6 | 59.9 | 61.2 | 62.4 | 63.7 | 65.0 | 66.3 | 67.5 | 68.8 | 70.1 |
| 12 | 43.1 | 44.3 | 45.6 | 46.8 | 48.1 | 49.3 | 50.6 | 51.8 | 53.1 | 54.3 | 55.6 | 56.8 | 58.1 | 59.4 | 60.7 | 62.0 | 63.2 | 64.5 | 65.8 | 67.1 | 68.4 | 69.7 | 71.0 | 72.4 |
| 13 | 44.9 | 46.1 | 47.4 | 48.6 | 49.9 | 51.2 | 52.5 | 53.7 | 55.0 | 56.3 | 57.6 | 58.9 | 60.2 | 61.5 | 62.8 | 64.1 | 65.4 | 66.7 | 68.0 | 69.3 | 70.7 | 72.0 | 73.3 | 74.7 |
| 14 | 46.7 | 48.0 | 49.3 | 50.5 | 51.8 | 53.1 | 54.4 | 55.7 | 57.0 | 58.3 | 59.6 | 60.9 | 62.3 | 63.6 | 64.9 | 66.3 | 67.6 | 68.9 | 70.3 | 71.6 | 73.0 | 74.4 | 75.7 | 77.1 |
| 15 | 48.6 | 49.9 | 51.2 | 52.5 | 53.8 | 55.1 | 56.4 | 57.8 | 59.1 | 60.4 | 61.8 | 63.1 | 64.5 | 65.8 | 67.2 | 68.5 | 69.9 | 71.3 | 72.6 | 74.0 | 75.4 | 76.8 | 78.2 | 79.6 |
| 16 | 50.5 | 51.8 | 53.2 | 54.5 | 55.8 | 57.2 | 58.5 | 59.9 | 61.2 | 62.6 | 64.0 | 65.3 | 66.7 | 68.1 | 69.5 | 70.9 | 72.3 | 73.7 | 75.1 | 76.5 | 77.9 | 79.3 | 80.8 | 82.2 |
| 17 | 52.5 | 53.9 | 55.2 | 56.6 | 58.0 | 59.3 | 60.7 | 62.1 | 63.5 | 64.9 | 66.3 | 67.7 | 69.1 | 70.5 | 71.9 | 73.3 | 74.8 | 76.2 | 77.6 | 79.1 | 80.5 | 82.0 | 83.5 | 84.9 |
| 18 | 54.6 | 56.0 | 57.4 | 58.8 | 60.2 | 61.6 | 63.0 | 64.4 | 65.8 | 67.2 | 68.6 | 70.1 | 71.5 | 73.0 | 74.4 | 75.9 | 77.3 | 78.8 | 80.3 | 81.8 | 83.3 | 84.8 | 86.3 | 87.8 |
| 19 | 56.8 | 58.2 | 59.6 | 61.0 | 62.4 | 63.9 | 65.3 | 66.8 | 68.2 | 69.7 | 71.1 | 72.6 | 74.1 | 75.5 | 77.0 | 78.5 | 80.0 | 81.5 | 83.1 | 84.6 | 86.1 | 87.6 | 89.2 | 90.7 |
| 20 | 59.0 | 60.4 | 61.9 | 63.3 | 64.8 | 66.3 | 67.7 | 69.2 | 70.7 | 72.2 | 73.7 | 75.2 | 76.7 | 78.2 | 79.8 | 81.3 | 82.8 | 84.4 | 85.9 | 87.5 | 89.1 | 90.7 | 92.2 | 93.8 |
| 21 | 61.3 | 62.8 | 64.3 | 65.8 | 67.3 | 68.8 | 70.3 | 71.8 | 73.3 | 74.9 | 76.4 | 77.9 | 79.5 | 81.1 | 82.6 | 84.2 | 85.8 | 87.4 | 89.0 | 90.6 | 92.2 | 93.8 | 95.4 | 97.1 |
| 22 | 63.8 | 65.3 | 66.8 | 68.3 | 69.8 | 71.4 | 72.9 | 74.5 | 76.1 | 77.6 | 79.2 | 80.8 | 82.4 | 84.0 | 85.6 | 87.2 | 88.9 | 90.5 | 92.1 | 93.8 | 95.5 | 97.1 | 98.8 | 100.5 |
| 23 | 66.3 | 67.8 | 69.4 | 71.0 | 72.5 | 74.1 | 75.7 | 77.3 | 78.9 | 80.5 | 82.2 | 83.8 | 85.4 | 87.1 | 88.7 | 90.4 | 92.1 | 93.8 | 95.5 | 97.2 | 98.9 | 100.6 | 102.4 | 104.1 |
| 24 | 68.9 | 70.5 | 72.1 | 73.7 | 75.3 | 77.0 | 78.6 | 80.3 | 81.9 | 83.6 | 85.2 | 86.9 | 88.6 | 90.3 | 92.0 | 93.8 | 95.5 | 97.2 | 99.0 | 100.7 | 102.5 | 104.3 | 106.1 | 107.9 |
| 25 | 71.7 | 73.3 | 75.0 | 76.6 | 78.3 | 80.0 | 81.7 | 83.3 | 85.1 | 86.8 | 88.5 | 90.2 | 92.0 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.1 | 100.9 | 102.7 | 104.5 | 106.3 | 108.2 | 110.0 | 111.9 |
| 26 | 74.6 | 76.3 | 78.0 | 79.7 | 81.4 | 83.1 | 84.8 | 86.6 | 88.4 | 90.1 | 91.9 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.2 | 101.0 | 102.9 | 104.8 | 106.6 | 108.5 | 110.4 | 112.3 | 114.2 | 116.2 |
| 27 | 77.6 | 79.4 | 81.1 | 82.9 | 84.6 | 86.4 | 88.2 | 90.0 | 91.9 | 93.7 | 95.5 | 97.4 | 99.3 | 101.2 | 103.1 | 105.0 | 106.9 | 108.8 | 110.8 | 112.7 | 114.7 | 116.7 | 118.7 | 120.7 |
| 28 | 80.8 | 82.6 | 84.4 | 86.3 | 88.1 | 89.9 | 91.8 | 93.7 | 95.6 | 97.5 | 99.4 | 101.3 | 103.3 | 105.2 | 107.2 | 109.2 | 111.2 | 113.2 | 115.2 | 117.3 | 119.3 | 121.4 | 123.5 | 125.6 |
| 29 | 84.2 | 86.1 | 87.9 | 89.8 | 91.7 | 93.7 | 95.6 | 97.5 | 99.5 | 101.5 | 103.5 | 105.5 | 107.5 | 109.5 | 111.6 | 113.7 | 115.7 | 117.8 | 120.0 | 122.1 | 124.2 | 126.4 | 128.6 | 130.8 |
| 30 | 87.8 | 89.7 | 91.7 | 93.6 | 95.6 | 97.6 | 99.6 | 101.6 | 103.7 | 105.7 | 107.8 | 109.9 | 112.0 | 114.2 | 116.3 | 118.5 | 120.6 | 122.8 | 125.1 | 127.3 | 129.5 | 131.8 | 134.1 | 136.4 |
| 31 | 91.6 | 93.6 | 95.6 | 97.7 | 99.7 | 101.8 | 103.9 | 106.0 | 108.2 | 110.3 | 112.5 | 114.7 | 116.9 | 119.1 | 121.4 | 123.6 | 125.9 | 128.2 | 130.5 | 132.9 | 135.3 | 137.7 | 140.1 | 142.5 |
| 32 | 95.7 | 97.8 | 99.9 | 102.0 | 104.2 | 106.3 | 108.5 | 110.7 | 113.0 | 115.2 | 117.5 | 119.8 | 122.1 | 124.5 | 126.8 | 129.2 | 131.6 | 134.0 | 136.5 | 139.0 | 141.5 | 144.0 | 146.6 | 149.1 |
| 33 | 100.0 | 102.2 | 104.4 | 106.6 | 108.9 | 111.2 | 113.5 | 115.8 | 118.2 | 120.5 | 122.9 | 125.4 | 127.8 | 130.3 | 132.8 | 135.3 | 137.8 | 140.4 | 143.0 | 145.6 | 148.3 | 150.9 | 153.7 | 156.4 |
| 34 | 104.7 | 107.0 | 109.3 | 111.7 | 114.0 | 116.4 | 118.9 | 121.3 | 123.8 | 126.3 | 128.8 | 131.4 | 134.0 | 136.6 | 139.2 | 141.9 | 144.6 | 147.4 | 150.1 | 152.9 | 155.7 | 158.6 | 161.5 | 164.4 |
| 35 | 108.7 | 112.2 | 114.6 | 117.1 | 119.6 | 122.2 | 124.7 | 127.3 | 129.9 | 132.6 | 135.3 | 138.0 | 140.8 | 143.6 | 146.4 | 149.2 | 152.1 | 155.0 | 158.0 | 161.0 | 164.0 | 167.0 | 170.0 | 173.0 |
| 36 | 115.2 | 117.8 | 120.4 | 123.0 | 125.7 | 128.4 | 131.1 | 133.9 | 136.7 | 139.5 | 142.4 | 145.3 | 148.3 | 151.3 | 154.3 | 157.3 | 160.3 | 163.6 | 166.8 | 170.0 | 173.3 | 176.6 | 179.9 | 183.3 |
| 37 | 121.3 | 124.0 | 126.8 | 129.6 | 132.4 | 135.3 | 138.2 | 141.2 | 144.2 | 147.3 | 150.3 | 153.5 | 156.7 | 159.9 | 163.2 | 166.5 | 169.8 | 173.2 | 176.7 | 180.2 | 183.7 | 187.3 | 191.0 | 194.7 |
| 38 | 127.9 | 130.8 | 133.8 | 136.8 | 139.8 | 143.0 | 146.2 | 149.4 | 152.6 | 155.9 | 159.2 | 162.6 | 166.1 | 169.6 | 173.2 | 176.8 | 180.4 | 184.2 | 188.0 | 191.8 | 195.7 | 199.7 | 203.7 | 207.7 |
| 39 | 135.3 | 138.5 | 141.7 | 145.0 | 148.3 | 151.7 | 155.1 | 158.6 | 162.1 | 165.7 | 169.4 | 173.1 | 176.9 | 180.7 | 184.7 | 188.7 | 192.7 | 196.6 | 200.6 | 204.6 | 208.6 | 214.0 | 218.5 | 223.0 |
| 40 | 143.7 | 147.1 | 150.6 | 154.2 | 157.8 | 161.5 | 165.3 | 169.1 | 173.0 | 177.0 | 181.1 | 185.2 | 189.4 | 193.7 | 198.1 | 202.5 | 207.1 | 211.7 | 216.4 | 221.1 | 225.9 | 231.0 | 236.0 | 241.1 |
| 41 | 153.2 | 157.0 | 160.9 | 164.8 | 168.9 | 173.0 | 177.2 | 181.5 | 185.8 | 190.3 | 194.8 | 199.5 | 204.2 | 209.1 | 214.0 | 219.1 | 224.2 | 229.4 | 234.8 | 240.2 | 245.8 | 251.5 | 257.2 | 263.1 |
| 42 | 164.3 | 168.6 | 172.9 | 177.3 | 181.9 | 186.5 | 191.3 | 196.1 | 201.1 | 206.2 | 211.4 | 216.7 | 222.2 | 227.7 | 233.4 | 239.2 | 245.2 | 251.3 | 257.5 | 263.8 | 270.3 | 276.9 | 283.6 | 290.5 |
| 43 | 177.5 | 182.3 | 187.3 | 192.4 | 197.6 | 202.9 | 208.4 | 214.0 | 219.8 | 225.8 | 231.8 | 238.1 | 244.5 | 251.0 | 257.7 | 264.6 | 271.7 | 278.9 | 286.3 | 293.8 | 301.5 | 309.4 | 317.4 | 325.7 |
| 44 | 193.6 | 198.3 | 205.1 | 211.0 | 217.2 | 223.5 | 230.0 | 236.7 | 243.6 | 250.8 | 258.1 | 265.6 | 273.3 | 281.2 | 289.4 | 297.8 | 306.3 | 315.1 | 324.1 | 333.3 | 342.8 | 352.4 | 362.3 | 372.4 |
| 45 | 214.1 | 220.9 | 227.9 | 235.2 | 242.7 | 250.4 | 258.4 | 266.7 | 275.3 | 284.1 | 293.3 | 302.6 | 312.3 | 322.3 | 332.5 | 343.0 | 353.8 | 364.9 | 376.2 | 387.9 | 399.8 | 412.0 | 424.5 | 437.4 |
| 46 | 241.5 | 250.0 | 258.9 | 268.2 | 277.8 | 287.8 | 298.1 | 308.8 | 319.9 | 331.4 | 343.3 | 355.5 | 368.1 | 381.1 | 394.5 | 408.3 | 422.5 | 437.1 | 452.0 | 467.4 | 483.3 | 499.6 | 516.3 | 533.5 |
| 47 | 280.9 | 292.4 | 304.4 | 316.9 | 330.0 | 343.6 | 357.8 | 372.5 | 387.7 | 403.4 | 419.8 | 436.6 | 454.1 | 472.1 | 490.7 | 509.9 | 529.8 | 550.4 | 571.7 | 593.8 | 616.7 | 640.5 | 665.3 | 691.0 |
| 48 | 344.1 | 360.9 | 378.4 | 396.8 | 416.0 | 436.0 | 456.9 | 478.6 | 501.2 | 524.7 | 549.3 | 574.8 | 601.5 | 629.4 | 658.6 | 689.3 | 721.5 | 755.6 | 791.5 | 829.7 | 870.4 | 913.9 | 960.6 | 1011.2 |
| 49 | 461.1 | 488.4 | 517.2 | 547.5 | 579.4 | 613.1 | 648.8 | 686.7 | 727.0 | 770.1 | 816.4 | 866.4 | 920.6 | 980.4 | 1042.2 | 1119.9 | 1203.3 | 1293.7 | 1413.6 | 1553.1 | 1732.9 | 1966.3 | 2419.6 | >2419.6 |

COLILERT-MENETELMÄN E. COLI -PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 2

| Pvm. | Laimennuskerroin | Colilert | Pvm. | Laimennuskerroin | Colilert |
|-------|------------------|--------------|-------|------------------|--------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 1203 | 26.4. | 10 ⁰ | 488 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 1630 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 794 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 1100 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 728 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 1986 | 27.4. | 10 ⁰ | 1300 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 1350 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 1918 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 2000 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 1226 |
| 12.4. | 10 ⁰ | >2420 | 28.4. | 10 ⁰ | 1300 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 2140 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 1333 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 2500 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 1424 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 1553 | 3.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 2040 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 3873 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 2300 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 3106 |
| 13.4. | 10 ⁰ | >2420 | 4.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 2720 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 7270 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 2000 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 12976 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 1986 | 5.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 1860 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 12033 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 2000 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 6152 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 1986 | 9.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 1220 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 4352 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 1360 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 4128 |
| 14.4. | 10 ⁰ | >2420 | 10.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 1790 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 7270 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 1720 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 8704 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 1300 | 11.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 2247 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 8164 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 2038 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 6896 |
| 15.4. | 10 ⁰ | >2420 | 12.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 1664 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 6131 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 1866 | 16.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 19.4. | 10 ⁰ | >2420 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 3654 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 2489 | 17.5. | 10 ⁰ | >2420 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 2028 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 8164 |

3M PETRIFILM *E. COLI*/COLIFORM –MENETELMÄN
E. COLI -PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 3

| Pvm. | Laimennuskerroin | 3M Pet- rifilm | Pvm. | Laimennuskerroin | 3M Pet- rifilm |
|-------|------------------|-------------------|-------|------------------|-------------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 1700 | 26.4. | 10 ⁰ | 200 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 600 | 27.4. | 10 ⁰ | 900 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 1000 | 28.4. | 10 ⁰ | 900 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 600 | 3.5. | 10 ⁰ | 4100 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 1000 | 4.5. | 10 ⁰ | 6100 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 4000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 0 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 10000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 2300 | 5.5. | 10 ⁰ | 4500 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 0 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 1400 | 9.5. | 10 ⁰ | 2300 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 3000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 2000 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 1000 | 10.5. | 10 ⁰ | 3400 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 5000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 4000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 1200 | 11.5. | 10 ⁰ | 6500 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 1500 | 12.5. | 10 ⁰ | 3700 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 2000 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 2000 | 16.5. | 10 ⁰ | 2300 |
| 19.4. | 10 ⁰ | 2300 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 17.5. | 10 ⁰ | 3700 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 2000 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 2000 |

COMPACT DRY EC -KUIVAMALJAN *E. COLI*
-PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 4

| Pvm. | Laimennuskerroin | Compact Dry | Pvm. | Laimennuskerroin | Compact Dry |
|-------|------------------|--------------|-------|------------------|--------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 900 | 26.4. | 10 ⁰ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 700 | 27.4. | 10 ⁰ | 400 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 2000 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 600 | 28.4. | 10 ⁰ | 700 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 400 | 3.5. | 10 ⁰ | 1400 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 500 | 4.5. | 10 ⁰ | 2300 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 4000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 2000 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 500 | 5.5. | 10 ⁰ | 1600 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 2000 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 8000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 700 | 9.5. | 10 ⁰ | 2500 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 900 | 10.5. | 10 ⁰ | 2300 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 2000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 1100 | 11.5. | 10 ⁰ | 1100 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 4000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 300 | 12.5. | 10 ⁰ | 1500 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 16.5. | 10 ⁰ | 900 |
| 19.4. | 10 ⁰ | 400 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 17.5. | 10 ⁰ | 1500 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 2000 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 0 |

COLILERT-MENETELMÄN KOLIFORMISTEN
BAKTEERIEIN PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 5

| Pvm. | Laimennuskerroin | Colilert | | Pvm. | Laimennuskerroin | Colilert | |
|-------|------------------|-----------------|-----------------|-------|------------------|-----------------|-----------------|
| | | +36 °C / 1d | MPN / 100 ml | | | +36 °C / 1d | MPN / 100 ml |
| | | MPN / 100 ml | | | | MPN / 100 ml | |
| 11.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 26.4. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 7700 | | 26.4. | 10 ⁻¹ | 2909 | |
| 11.4. | 10 ⁻² | 7700 | | 26.4. | 20 ⁻¹ | 2306 | |
| 11.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 27.4. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 8160 | | 27.4. | 10 ⁻¹ | 4610 | |
| 11.4. | 10 ⁻² | 8400 | | 27.4. | 20 ⁻¹ | 3578 | |
| 12.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 28.4. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 11200 | | 28.4. | 10 ⁻¹ | 6867 | |
| 12.4. | 10 ⁻² | 14100 | | 28.4. | 20 ⁻¹ | 5226 | |
| 12.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 3.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 9210 | | 3.5. | 10 ⁻¹ | 15531 | |
| 12.4. | 10 ⁻² | 11500 | | 3.5. | 20 ⁻¹ | 19608 | |
| 13.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 4.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 14140 | | 4.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 13.4. | 10 ⁻² | 24500 | | 4.5. | 20 ⁻¹ | 48392 | |
| 13.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 5.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 11200 | | 5.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 13.4. | 10 ⁻² | 10500 | | 5.5. | 20 ⁻¹ | 34658 | |
| 14.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 9.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 8660 | | 9.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 10960 | | 9.5. | 20 ⁻¹ | 28272 | |
| 14.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 10.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 8660 | | 10.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 7940 | | 10.5. | 20 ⁻¹ | 2420 | |
| 15.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 11.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 15531 | | 11.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 12262 | | 11.5. | 20 ⁻¹ | 2420 | |
| 15.4. | 10 ⁰ | >2420 | | 12.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 8164 | | 12.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 6152 | | 16.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 19.4. | 10 ⁰ | 2420 | | 16.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 14136 | | 17.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 22398 | | 17.5. | 10 ⁻¹ | 2420 | |

3M PETRIFILM *E. COLI*/COLIFORM -MENETELMÄN
PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 6

| Pvm. | Laimennuskerroin | 3M Petrifilm | Pvm. | Laimennuskerroin | 3M Petrifilm |
|-------|------------------|--------------|-------|------------------|--------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 6700 | 26.4. | 10 ⁰ | 1500 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 6700 | 27.4. | 10 ⁰ | 2500 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 4000 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 7300 | 28.4. | 10 ⁰ | 4800 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 2000 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 5900 | 3.5. | 10 ⁰ | 13900 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 7000 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 4000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 12000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 7700 | 4.5. | 10 ⁰ | 23700 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 4000 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 14000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 0 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 24000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 8600 | 5.5. | 10 ⁰ | 29200 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 5000 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 15000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 0 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 16000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 5100 | 9.5. | 10 ⁰ | 27400 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 19000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 6000 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 16000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 4600 | 10.5. | 10 ⁰ | 44100 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 2000 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 30000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 26000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 7400 | 11.5. | 10 ⁰ | 50800 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 4000 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 30000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 22000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 8400 | 12.5. | 10 ⁰ | 60300 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 5000 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 42000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 2000 | 16.5. | 10 ⁰ | 21600 |
| 19.4. | 10 ⁰ | 10800 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 9000 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 4000 | 17.5. | 10 ⁰ | 72500 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 8000 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 30000 |

COMPACT DRY EC -KUIVAMALJAN KOLIFORMISTEN
BAKTEERIEEN PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 7

| Pvm. | Laimennuskerroin | Compact Dry | Pvm. | Laimennuskerroin | Compact Dry |
|-------|------------------|--------------|-------|------------------|--------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 5300 | 26.4. | 10 ⁰ | 900 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 2000 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 2000 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 5600 | 27.4. | 10 ⁰ | 1300 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 2000 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 3300 | 28.4. | 10 ⁰ | 4200 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 6000 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 10000 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 3900 | 3.5. | 10 ⁰ | 8600 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 3000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 10000 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 4000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 5300 | 4.5. | 10 ⁰ | 14700 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 6000 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 10000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 3000 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 10000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 5300 | 5.5. | 10 ⁰ | 12900 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 3000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 10000 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 12000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 4300 | 9.5. | 10 ⁰ | 18600 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 8000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 16000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 46000 | 10.5. | 10 ⁰ | 19600 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 0 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 24000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 8000 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 24000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 4900 | 11.5. | 10 ⁰ | 22900 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 36000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 18000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 4400 | 12.5. | 10 ⁰ | 23200 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 31000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 16.5. | 10 ⁰ | 17400 |
| 19.4. | 10 ⁰ | 3800 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 20000 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 17.5. | 10 ⁰ | 30000 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 6000 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 30000 |

ENTEROLERT-MENETELMÄN ENTEROBAKTEERIEN
PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 8

| Pvm. | Laimennuskerroin | Enterolert | | Pvm. | Laimennuskerroin | Enterolert | |
|-------|------------------|-----------------|--|-------|------------------|-----------------|--|
| | | +41 °C / 1d | | | | +41 °C / 1d | |
| | | MPN / 100 ml | | | | MPN / 100 ml | |
| 11.4. | 10 ⁰ | 727 | | 26.4. | 10 ⁰ | 548 | |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 450 | | 26.4. | 10 ⁻¹ | 399 | |
| 11.4. | 10 ⁻² | 400 | | 26.4. | 20 ⁻¹ | 524 | |
| 11.4. | 10 ⁰ | 866 | | 27.4. | 10 ⁰ | 1414 | |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 360 | | 27.4. | 10 ⁻¹ | 1178 | |
| 11.4. | 10 ⁻² | 300 | | 27.4. | 20 ⁻¹ | 960 | |
| 12.4. | 10 ⁰ | 649 | | 28.4. | 10 ⁰ | 1203 | |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 550 | | 28.4. | 10 ⁻¹ | 987 | |
| 12.4. | 10 ⁻² | 800 | | 28.4. | 20 ⁻¹ | 974 | |
| 12.4. | 10 ⁰ | 517 | | 3.5. | 10 ⁰ | 1986 | |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 470 | | 3.5. | 10 ⁻¹ | 2098 | |
| 12.4. | 10 ⁻² | 300 | | 3.5. | 20 ⁻¹ | 1720 | |
| 13.4. | 10 ⁰ | 816 | | 4.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 3930 | | 4.5. | 10 ⁻¹ | 3448 | |
| 13.4. | 10 ⁻² | 7300 | | 4.5. | 20 ⁻¹ | 4374 | |
| 13.4. | 10 ⁰ | 816 | | 5.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 4810 | | 5.5. | 10 ⁻¹ | 3654 | |
| 13.4. | 10 ⁻² | 5200 | | 5.5. | 20 ⁻¹ | 4494 | |
| 14.4. | 10 ⁰ | 575 | | 9.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 600 | | 9.5. | 10 ⁻¹ | 2909 | |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 460 | | 9.5. | 20 ⁻¹ | 2024 | |
| 14.4. | 10 ⁰ | 816 | | 10.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 440 | | 10.5. | 10 ⁻¹ | 3255 | |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 400 | | 10.5. | 20 ⁻¹ | 4028 | |
| 15.4. | 10 ⁰ | 687 | | 11.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 1145 | | 11.5. | 10 ⁻¹ | 4611 | |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 910 | | 11.5. | 20 ⁻¹ | 3808 | |
| 15.4. | 10 ⁰ | 1120 | | 12.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 884 | | 12.5. | 10 ⁻¹ | 2382 | |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 794 | | 16.5. | 10 ⁰ | 1733 | |
| 19.4. | 10 ⁰ | 1300 | | 16.5. | 10 ⁻¹ | 1334 | |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 1354 | | 17.5. | 10 ⁰ | >2420 | |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 864 | | 17.5. | 10 ⁻¹ | 5172 | |

3M PETRIFILM ENTEROBACTERIACEAE -MENETELMÄN
ENTEROBAKTEERIEEN PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 9

| Pvm. | Laimennuskerroin | 3M Petrifilm | Pvm. | Laimennuskerroin | 3M Petrifilm |
|-------|------------------|--------------|-------|------------------|--------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 9100 | 26.4. | 10 ⁰ | 4100 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 8000 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 3000 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 20000 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 10000 | 27.4. | 10 ⁰ | 5400 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 5000 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 20000 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 6000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 12500 | 28.4. | 10 ⁰ | 10700 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 7000 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 1000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 0 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 11100 | 3.5. | 10 ⁰ | 20500 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 7000 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 11000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 10000 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 10000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 14100 | 4.5. | 10 ⁰ | 35600 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 12000 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 24000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 20000 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 24000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 15100 | 5.5. | 10 ⁰ | 36600 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 15000 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 30000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 0 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 38000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 10700 | 9.5. | 10 ⁰ | 34700 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 34000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 10000 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 34000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 10500 | 10.5. | 10 ⁰ | 44700 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 8000 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 30000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 0 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 54000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 14400 | 11.5. | 10 ⁰ | 75900 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 10000 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 74000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 6000 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 68000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 9800 | 12.5. | 10 ⁰ | 83600 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 10000 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 72000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 16.5. | 10 ⁰ | 30100 |
| 19.4. | 10 ⁰ | 17600 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 25000 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 5000 | 17.5. | 10 ⁰ | 83200 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 20000 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 70000 |

COMPACT DRY ETB -MENETELMÄN ENTEROBAKTEERIEIN
PESÄKEMÄÄRÄT

LIITE 10

| Pvm. | Laimennuskerroin | Compact Dry | Pvm. | Laimennuskerroin | Compact Dry |
|-------|------------------|--------------|-------|------------------|--------------|
| | | +36 °C / 1d | | | +36 °C / 1d |
| | | MPN / 100 ml | | | MPN / 100 ml |
| 11.4. | 10 ⁰ | 6200 | 26.4. | 10 ⁰ | 2200 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 1000 | 26.4. | 10 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 26.4. | 20 ⁻¹ | 0 |
| 11.4. | 10 ⁰ | 6300 | 27.4. | 10 ⁰ | 2800 |
| 11.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 27.4. | 10 ⁻¹ | 4000 |
| 11.4. | 10 ⁻² | 0 | 27.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 6700 | 28.4. | 10 ⁰ | 5400 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 28.4. | 10 ⁻¹ | 4000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 20000 | 28.4. | 20 ⁻¹ | 2000 |
| 12.4. | 10 ⁰ | 6200 | 3.5. | 10 ⁰ | 11300 |
| 12.4. | 10 ⁻¹ | 8000 | 3.5. | 10 ⁻¹ | 13000 |
| 12.4. | 10 ⁻² | 10000 | 3.5. | 20 ⁻¹ | 14000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 6400 | 4.5. | 10 ⁰ | 20900 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 5000 | 4.5. | 10 ⁻¹ | 17000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 0 | 4.5. | 20 ⁻¹ | 22000 |
| 13.4. | 10 ⁰ | 6700 | 5.5. | 10 ⁰ | 18300 |
| 13.4. | 10 ⁻¹ | 2000 | 5.5. | 10 ⁻¹ | 26000 |
| 13.4. | 10 ⁻² | 10000 | 5.5. | 20 ⁻¹ | 32000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 4500 | 9.5. | 10 ⁰ | 22100 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 8000 | 9.5. | 10 ⁻¹ | 18000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 9.5. | 20 ⁻¹ | 12000 |
| 14.4. | 10 ⁰ | 5500 | 10.5. | 10 ⁰ | 16700 |
| 14.4. | 10 ⁻¹ | 3000 | 10.5. | 10 ⁻¹ | 29000 |
| 14.4. | 20 ⁻¹ | 4000 | 10.5. | 20 ⁻¹ | 38000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 7300 | 11.5. | 10 ⁰ | 45900 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 7000 | 11.5. | 10 ⁻¹ | 53000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 2000 | 11.5. | 20 ⁻¹ | 32000 |
| 15.4. | 10 ⁰ | 6800 | 12.5. | 10 ⁰ | 29600 |
| 15.4. | 10 ⁻¹ | 2000 | 12.5. | 10 ⁻¹ | 63000 |
| 15.4. | 20 ⁻¹ | 6000 | 16.5. | 10 ⁰ | 21800 |
| 19.4. | 10 ⁰ | 8500 | 16.5. | 10 ⁻¹ | 12000 |
| 19.4. | 10 ⁻¹ | 7000 | 17.5. | 10 ⁰ | 47600 |
| 19.4. | 20 ⁻¹ | 8000 | 17.5. | 10 ⁻¹ | 54000 |