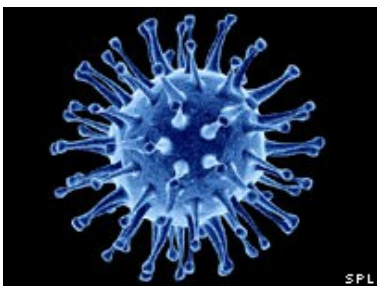
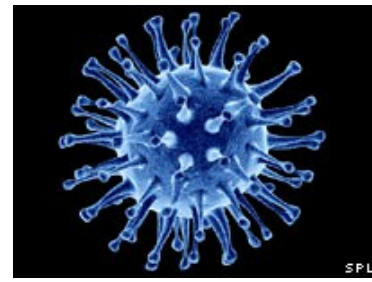


Odpadní vody

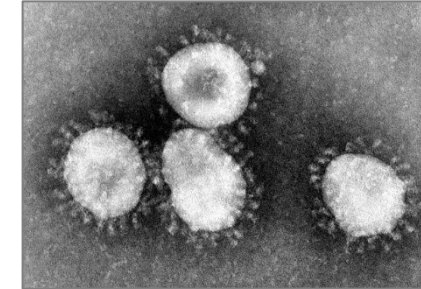


Petra Vašíčková
pvasickova@sci.muni.cz

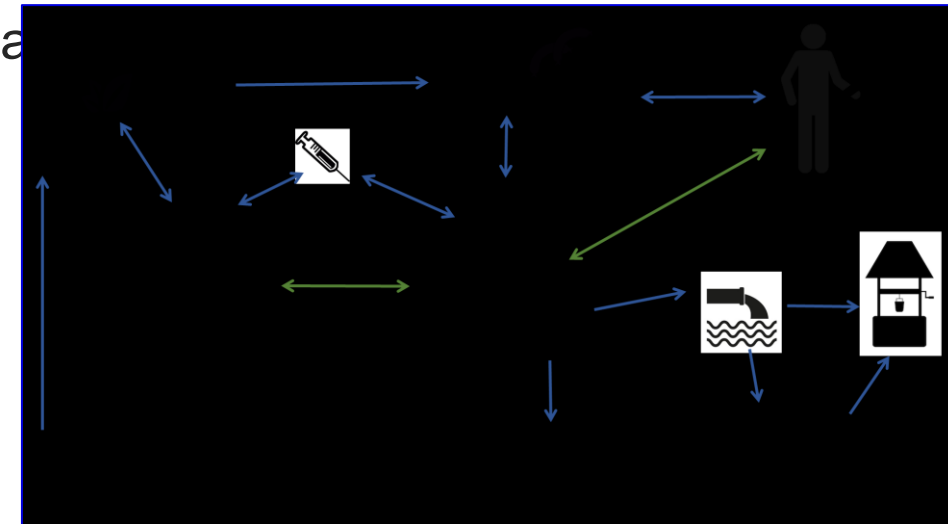
Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE) SARS-CoV-2



(https://en.wikipedia.org/wiki/History_of_coronavirus)

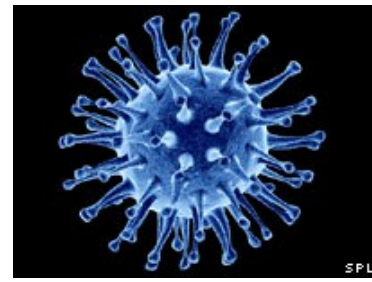


- Vylučování stolicí až u 50 % infikovaných
 - neprokázán přenos fekálně-orální cestou (infekčnost viru ve stolici?)
 - neprokázán přenos kontaminovanou vodou – předpoklad inaktivace viru během procesů čištění odpadních vod
- Průkaz RNA SARS-CoV-2 v moči (30 %)
 - https://heis.vuv.cz/data/webmap/datovesady/projekty/covmon/docvystupy/Vsouhrn_COVMON-VI04000017_2022_final.pdf



Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)

Projekt SOVAK (14.4. – 6.5.2020)



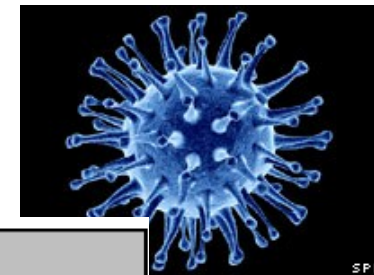
- **Primární zaměření projektu**

- posoudit současnou epidemiologickou situaci – SARS-CoV-2
- stanovit míru výskytu SARS-CoV-2 v odpadních vodách v ČR
- posoudit míru rizika přenosu SARS-CoV-2 ve spojení s odpadní vodou

- **Analyzované vzorky**

- 7 ČOV, 2 28 vzorků (interval 3 týdny)
- voda na přítoku, během čistírenského procesu a na odtoku z ČOV
- anonymní vzorky
- adaptace akreditované metody (Mlejnkova et al., 2020)

Výsledky projektu SOVAK – RNA SARS-CoV-2

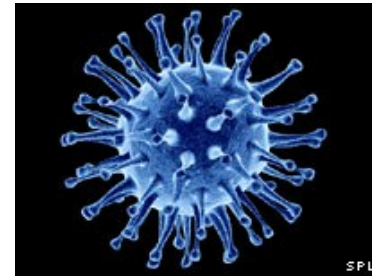


1. odběr		2. odběr	
Vz.č.	SARS-CoV-2	Vz.č.	SARS-CoV-2
1	-	29	-
2	-	30	+
3	-	31	+
4	-	32	-
5	+	33	-
6	-	34	+
7	-	35	-
8	-	36	-
9	-	37	-
10	-	38	-
11	-	39	-
12	+	40	-
13	-	41	-
14	-	42	-
15	-	43	-

1. odběr		2. odběr	
Vz.č.	SARS-CoV-2	Vz.č.	SARS-CoV-2
16	-	44	-
17	-	45	-
18	-	46	-
19	-	47	-
20	+	48	-
21	-	49	-
22	-	50	-
23	-	51	-
24	-	52	-
25	-	53	-
26	-	54	+
27	-	55	+
28	-	56	-

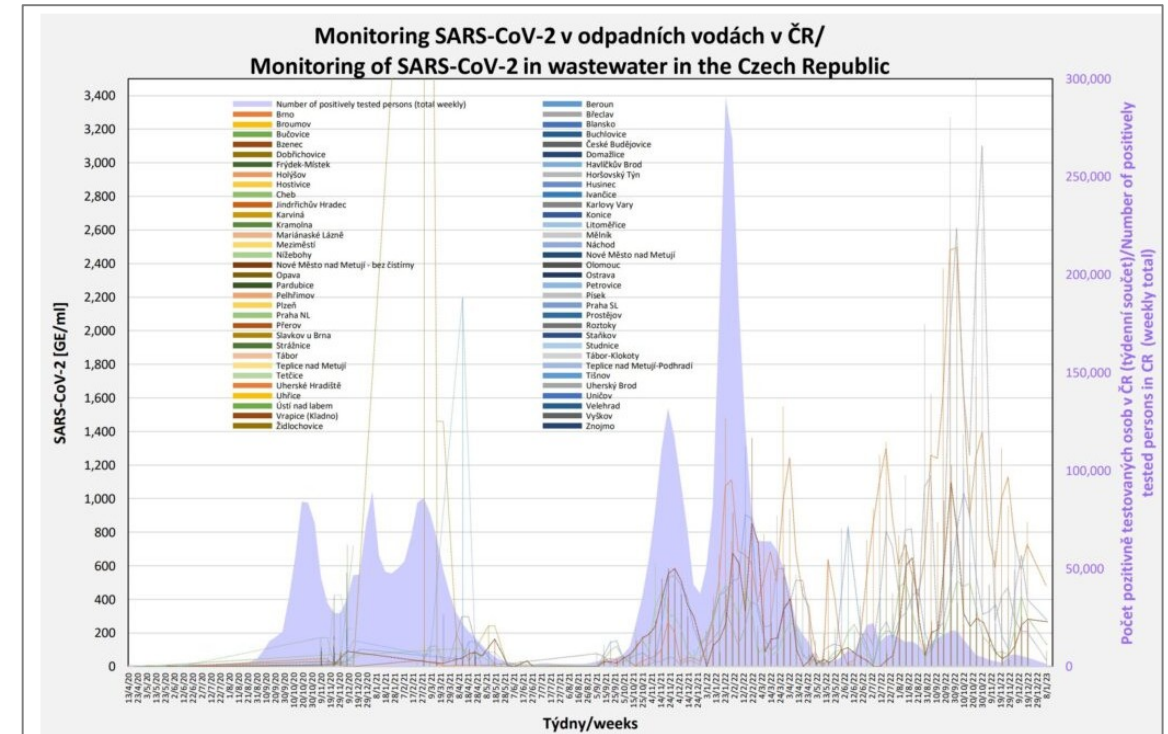
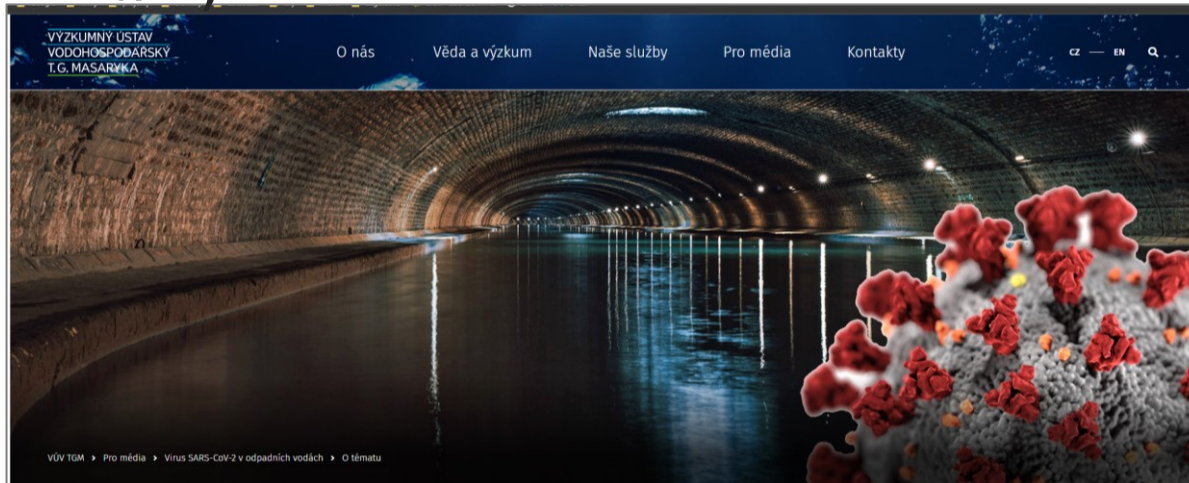
- negativní, + pozitivní výsledek; Vašíčková a kol., 2020

Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)



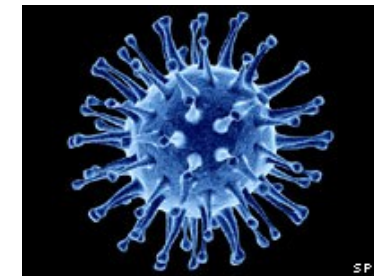
VI04000017 - VYUŽITÍ MONITORINGU
ODPADNÍCH VOD JAKO NÁSTROJE
VČASNÉHO VAROVÁNÍ PŘED VZNIKEM
EPIDEMIOLOGICKÉ SITUACE (2021-2022,

MVO/VI)



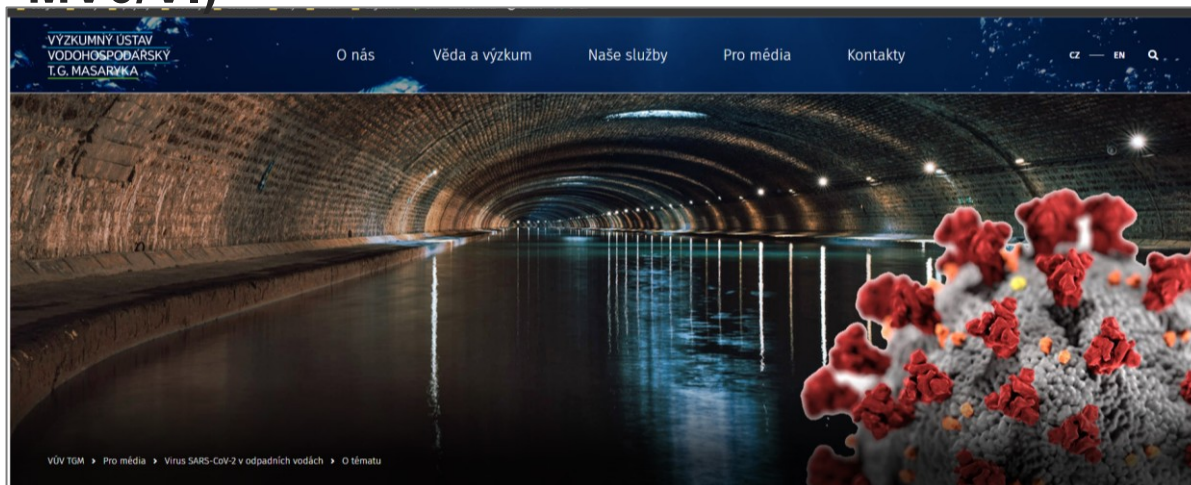
<https://www.vuv.cz/virus-covid19-v-odpadnich-vodach/o-tematu-23/>

Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)



VI04000017 - VYUŽITÍ MONITORINGU
ODPADNÍCH VOD JAKO NÁSTROJE
VČASNÉHO VAROVÁNÍ PŘED VZNIKEM
EPIDEMIOLOGICKÉ SITUACE (2021-2022,

MVO/VI)



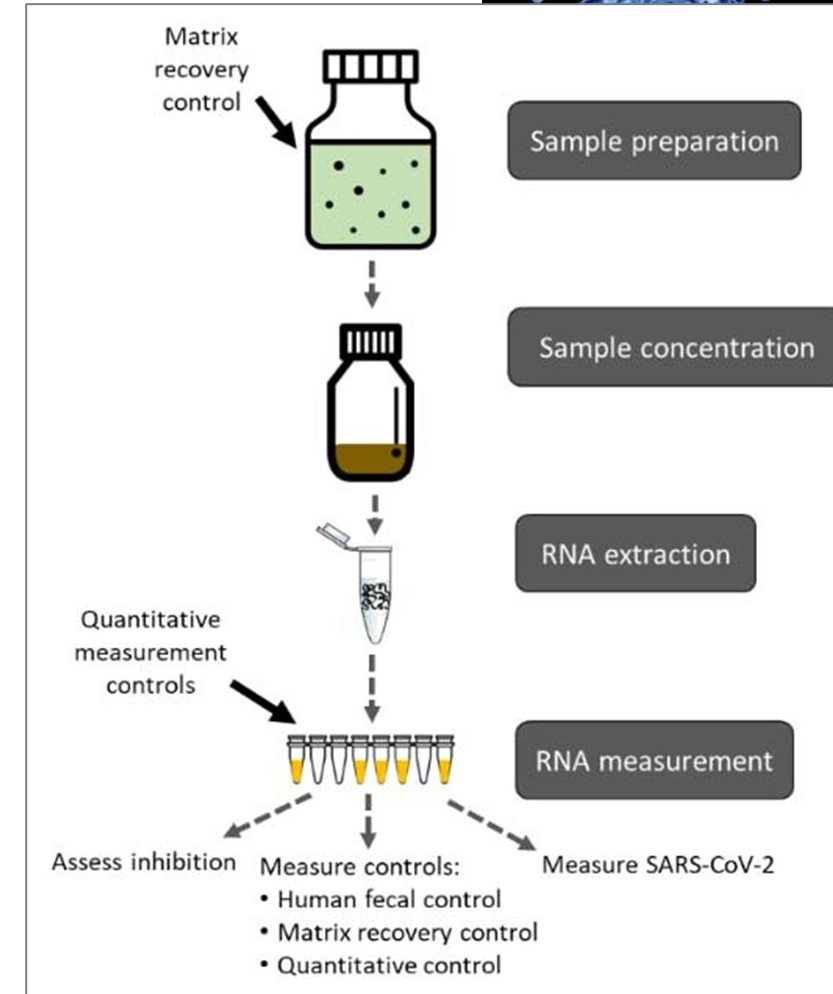
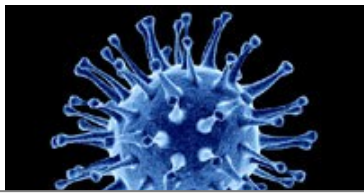
Vašíčková, Hrdý, Krásna, Sovová,
Gharwalová, Mlejnková. **Metodický postup
analýzy odpadních vod na přítomnost
specifických oblastí genomu SARS-CoV-2.**

Metodický postup 141, 2022.
<https://www.vri.cz/vyzkum/databaze-aplikovanych-vysledku/>

<https://www.vuv.cz/virus-covid19-v-odpadnich-vodach/o-tematu-23/>

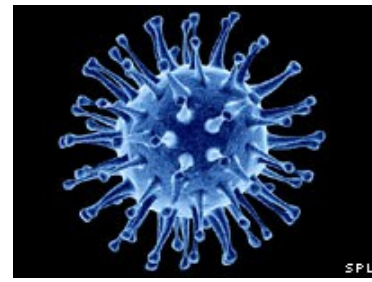
Metodický postup

- Výběr vhodné metody
- Řádný odběr vzorku
- Transport vzorku do laboratoře × stabilita vzorku
- Systém kontrol celého postupu
 - kontrola odběru vzorku a podmínek transportu do laboratoře (preanalytická fáze)
 - kontrola zpracování vzorku v laboratoři (analytická fáze)
 - kontrola detekčního a kvantifikačního kroku (analytická fáze)
- Charakteristika metodického postupu a mezilaboratorní porovnání
- Řádná interpretace výsledků
 - Statistická analýza dat
 - Faktory ovlivňující výsledky



<https://www.cdc.gov/nwss/testing.htm>

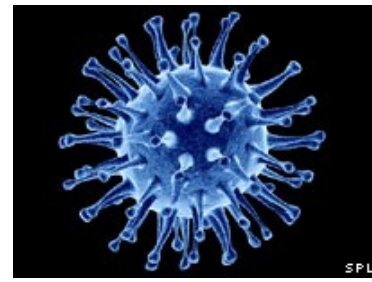
Metodický postup



- **Výběr vhodné metody**
 - vzorky odpadních vod uměle kontaminovány definovaným množstvím vybraných virových agens (5×10^6 GE), výpočet účinnosti
 - důraz – uživatelsky jednoduchá metoda, dostupné vybavení/reagencie, cena, rychlost

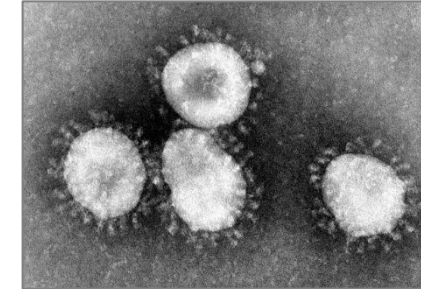
Agens	Organická flokulace, BE	Precipitace, PEG/NaCl	Anorganická flokulace, Al	Centrifugace 10 000×g/30 min
Virus přenosné gastroenteritidy prasat (TGEV)	42,64 %	43,94 %	17,55 %	17,55 %
Defektní bakteriofág MS2 (aRNA)	5,81 %	26,94 %	0,83 %	5,41 %
Bovinní herpesvirus typu 1 (BHV-1)	11,40 %	41,11 %	0,56 %	15,85 %

Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE) SARS-CoV-2



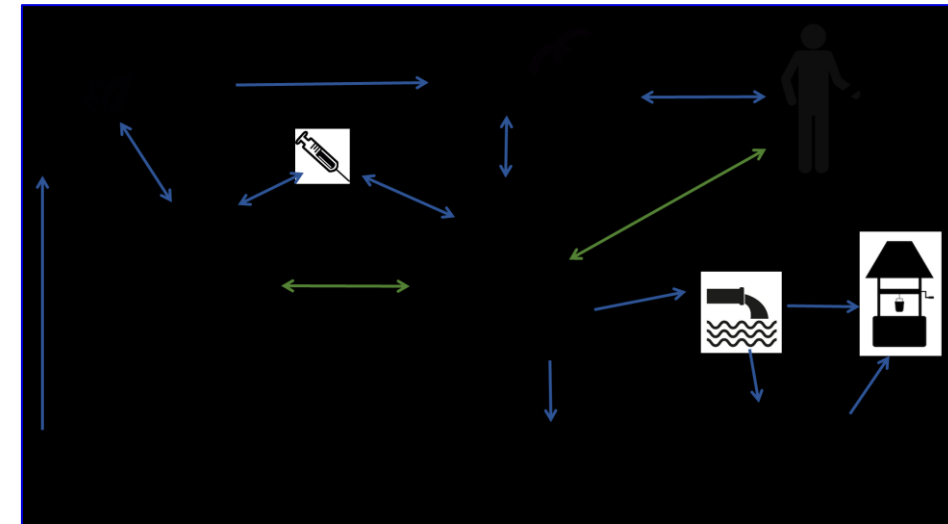
(https://en.wikipedia.org/wiki/History_of_coronavirus)

- Vylučování stolicí až u 50 % infikovaných
 - neprokázán přenos fekálně-orální cestou (infekčnost viru ve stolici?)
 - neprokázán přenos kontaminovanou vodou – předpoklad inaktivace viru během procesů čištění odpadních vod



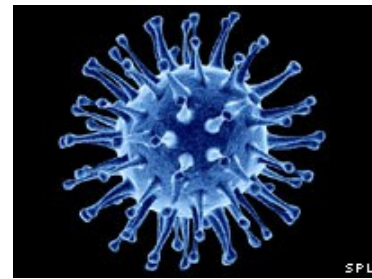
- Průkaz RNA SARS-CoV-2 v moči (30 %)

➢ https://heis.vuv.cz/data/webmap/datovesady/projekty/covmon/docvystupy/Vsouhrn_COVMON-VI04000017_2022_final.pdf



Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)

Projekt SOVAK (14.4. – 6.5.2020)



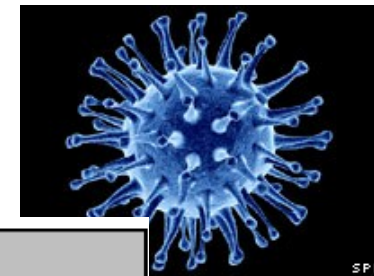
- **Primární zaměření projektu**

- posoudit současnou epidemiologickou situaci – SARS-CoV-2
- stanovit míru výskytu SARS-CoV-2 v odpadních vodách v ČR
- posoudit míru rizika přenosu SARS-CoV-2 ve spojení s odpadní vodou

- **Analyzované vzorky**

- 7 ČOV, 2 28 vzorků (interval 3 týdny)
- voda na přítoku, během čistírenského procesu a na odtoku z ČOV
- anonymní vzorky
- adaptace akreditované metody (Mlejnkova et al., 2020)

Výsledky projektu SOVAK – RNA SARS-CoV-2

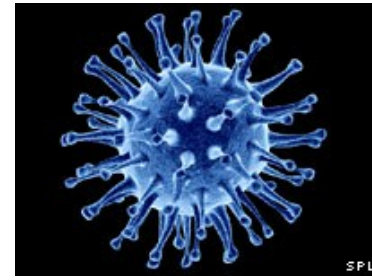


1. odběr		2. odběr	
Vz.č.	SARS-CoV-2	Vz.č.	SARS-CoV-2
1	-	29	-
2	-	30	+
3	-	31	+
4	-	32	-
5	+	33	-
6	-	34	+
7	-	35	-
8	-	36	-
9	-	37	-
10	-	38	-
11	-	39	-
12	+	40	-
13	-	41	-
14	-	42	-
15	-	43	-

1. odběr		2. odběr	
Vz.č.	SARS-CoV-2	Vz.č.	SARS-CoV-2
16	-	44	-
17	-	45	-
18	-	46	-
19	-	47	-
20	+	48	-
21	-	49	-
22	-	50	-
23	-	51	-
24	-	52	-
25	-	53	-
26	-	54	+
27	-	55	+
28	-	56	-

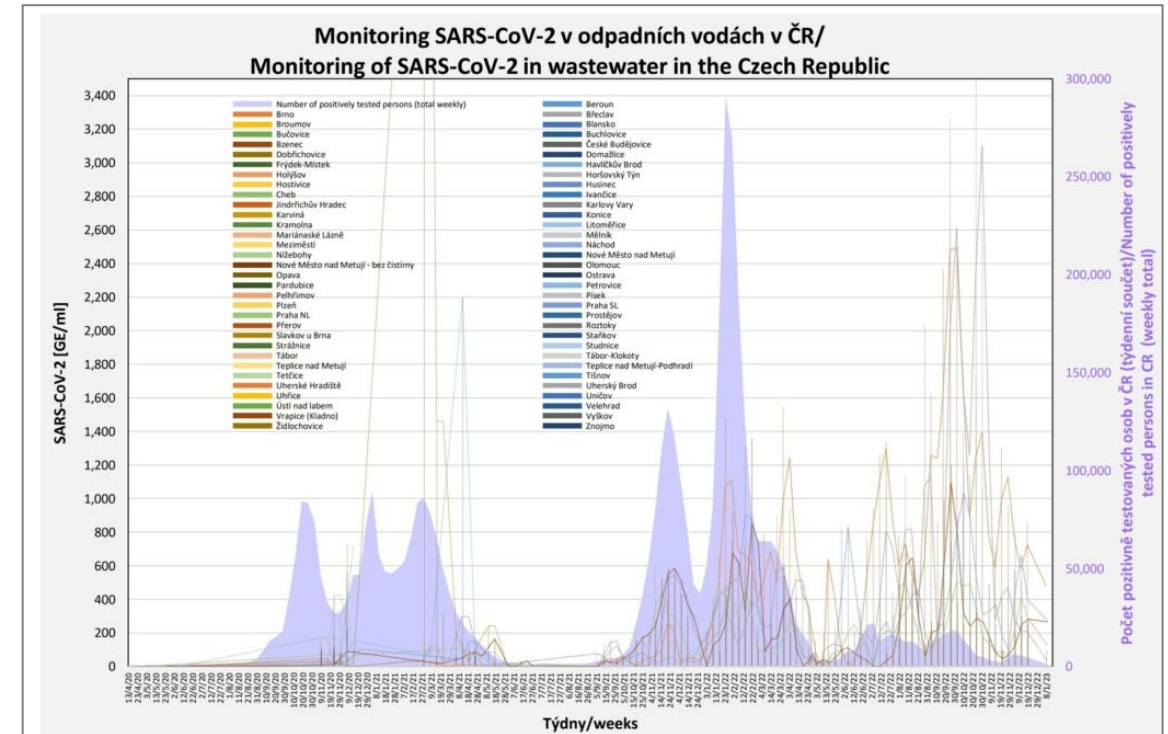
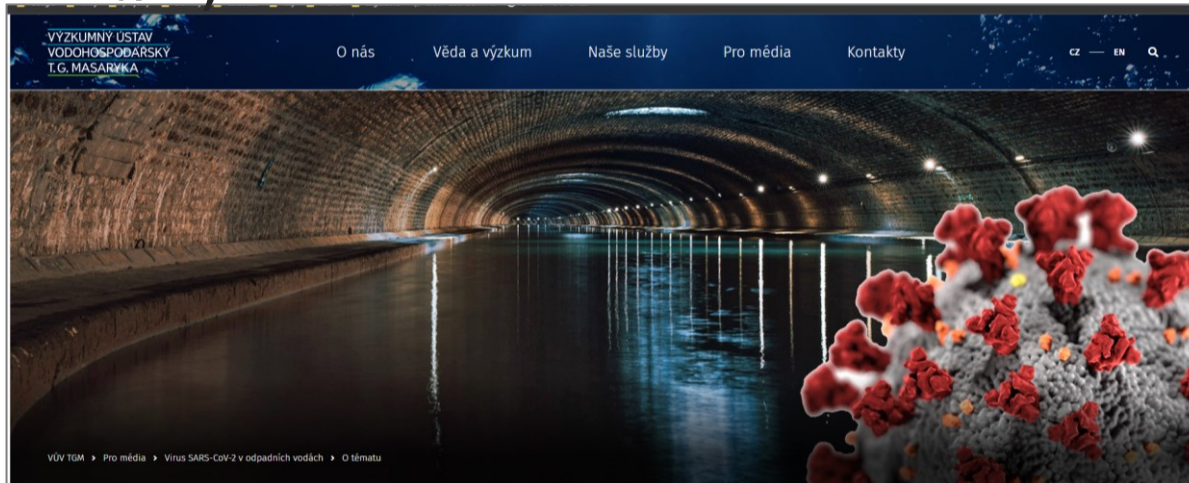
- negativní, + pozitivní výsledek; Vašíčková a kol., 2020

Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)



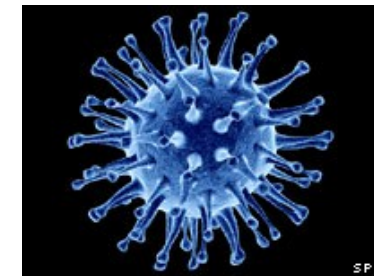
VI04000017 - VYUŽITÍ MONITORINGU
ODPADNÍCH VOD JAKO NÁSTROJE
VČASNÉHO VAROVÁNÍ PŘED VZNIKEM
EPIDEMIOLOGICKÉ SITUACE (2021-2022,

MVO/VI)



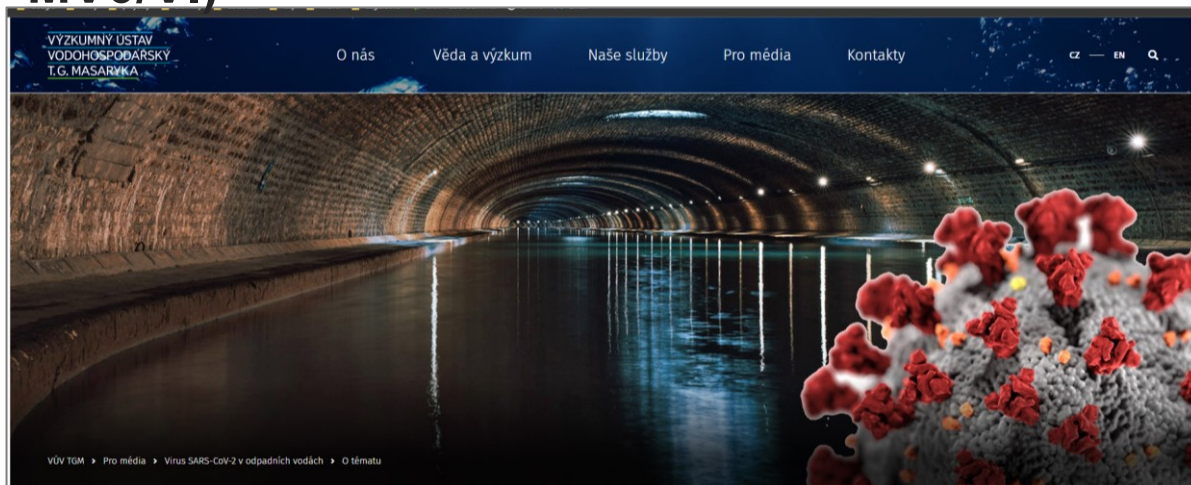
<https://www.vuv.cz/virus-covid19-v-odpadnich-vodach/o-tematu-23/>

Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)



VI04000017 - VYUŽITÍ MONITORINGU
ODPADNÍCH VOD JAKO NÁSTROJE
VČASNÉHO VAROVÁNÍ PŘED VZNIKEM
EPIDEMIOLOGICKÉ SITUACE (2021-2022,

MVO/VI)



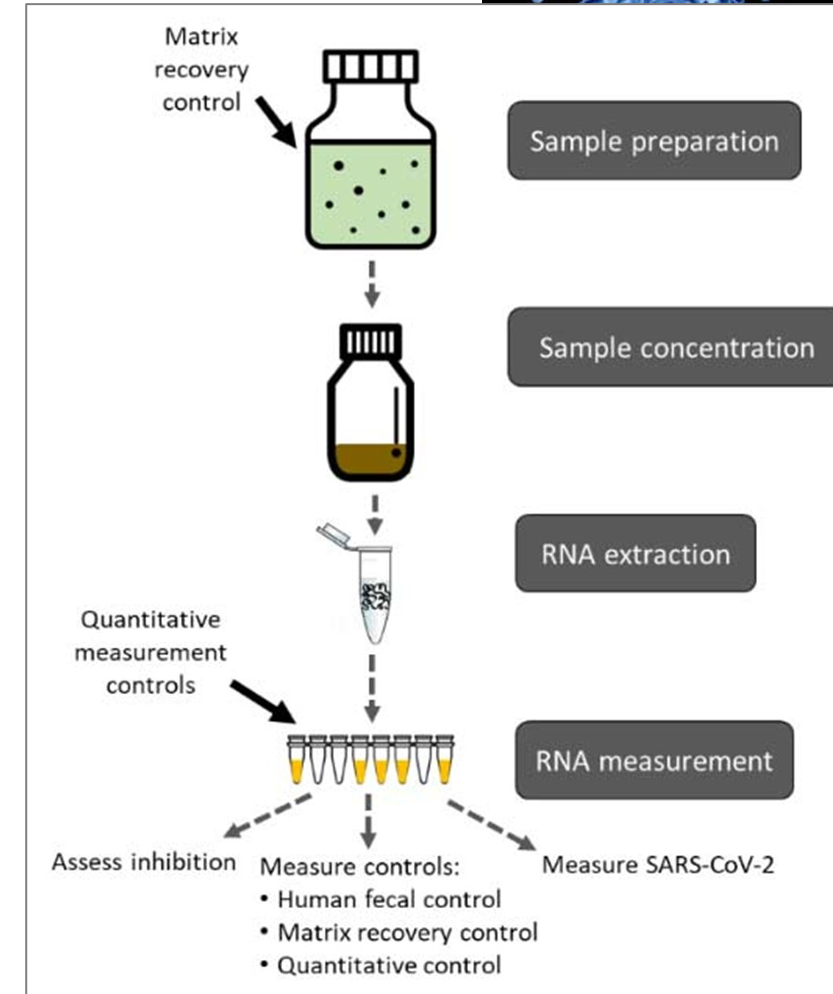
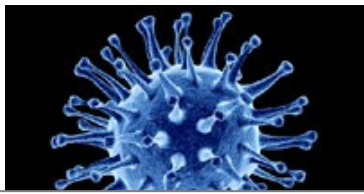
Vašíčková, Hrdý, Krásna, Sovová,
Gharwalová, Mlejnková. **Metodický postup
analýzy odpadních vod na přítomnost
specifických oblastí genomu SARS-CoV-2.**

Metodický postup 141, 2022.
<https://www.vri.cz/vyzkum/databaze-aplikovanych-vysledku/>

<https://www.vuv.cz/virus-covid19-v-odpadnich-vodach/o-tematu-23/>

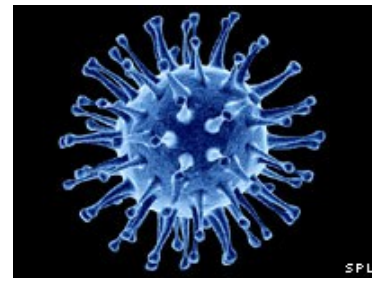
Metodický postup

- Výběr vhodné metody
- Řádný odběr vzorku
- Transport vzorku do laboratoře × stabilita vzorku
- Systém kontrol celého postupu
 - kontrola odběru vzorku a podmínek transportu do laboratoře (preanalytická fáze)
 - kontrola zpracování vzorku v laboratoři (analytická fáze)
 - kontrola detekčního a kvantifikačního kroku (analytická fáze)
- Charakteristika metodického postupu a mezilaboratorní porovnání
- Řádná interpretace výsledků
 - Statistická analýza dat
 - Faktory ovlivňující výsledky



<https://www.cdc.gov/nwss/testing.htm>

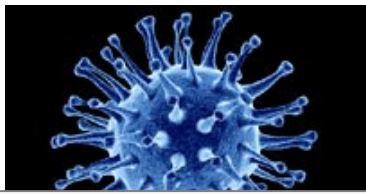
Metodický postup



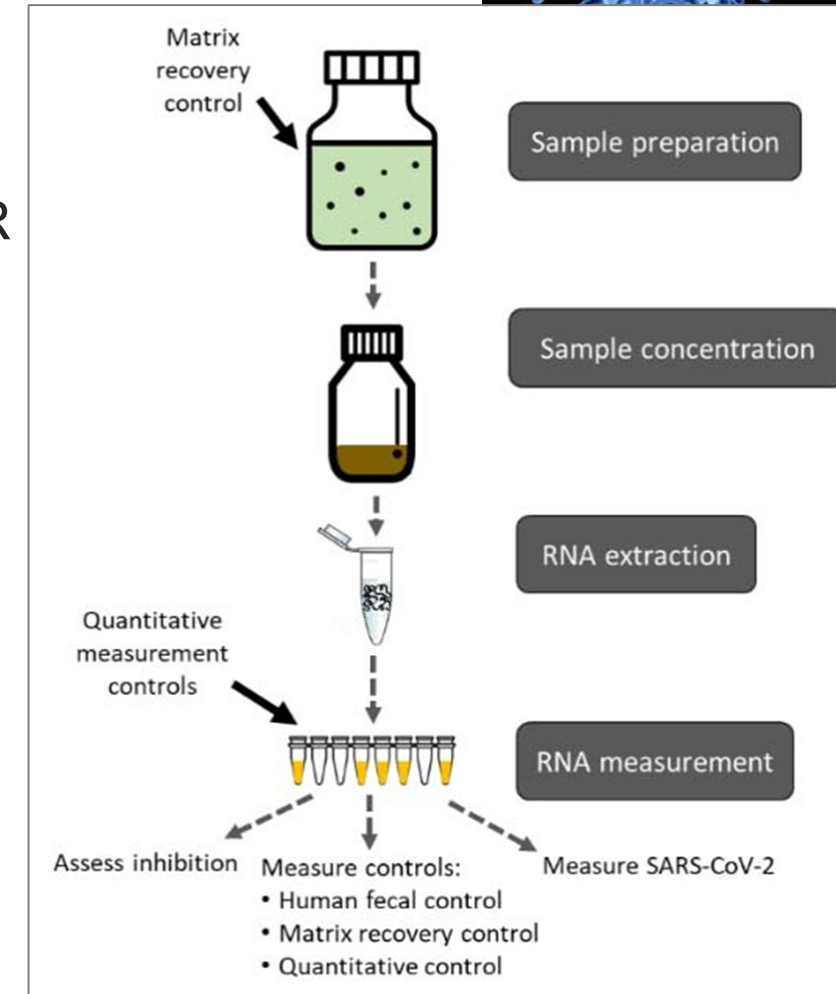
- **Výběr vhodné metody**
 - vzorky odpadních vod uměle kontaminovány definovaným množstvím vybraných virových agens (5×10^6 GE), výpočet účinnosti
 - důraz – uživatelsky jednoduchá metoda, dostupné vybavení/reagencie, cena, rychlost

Agens	Organická flokulace, BE	Precipitace, PEG/NaCl	Anorganická flokulace, Al	Centrifugace 10 000×g/30 min
Virus přenosné gastroenteritidy prasat (TGEV)	42,64 %	43,94 %	17,55 %	17,55 %
Defektní bakteriofág MS2 (aRNA)	5,81 %	26,94 %	0,83 %	5,41 %
Bovinní herpesvirus typu 1 (BHV-1)	11,40 %	41,11 %	0,56 %	15,85 %

Metodický postup

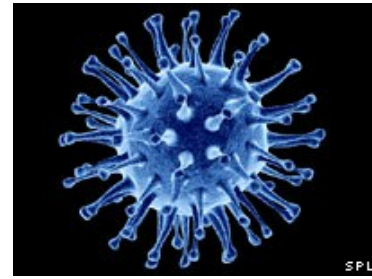


- **System kontrol celého postupu**
 - **kontrola odběru a transportu vzorku do laboratoře**
 - **humánní adenoviry (indikátory fekálního znečištění) - qPCR**
 - **kontrola zpracování vzorku v laboratoři (účinnost izolace)**
 - **umělá kontaminace každého vzorku TGEV (5×10^6 GE) – RT-qPCR**
 - **kontrola detekčního a kvantifikačního kroku - RT-qPCR**
 - **interní amplifikační kontrola**
 - **pozitivní kontrola - RNA gradient (*in vitro* transkript)**
- SARS-CoV-2 (GE/500 ml) = ((x / 5) × y) × 14,29 × (100 / účinnost izolace TGEV)**
- (Note: 'kvantifikace' is written below the formula)*



<https://www.cdc.gov/nwss/testing.htm>

Metodický postup



- **Charakteristika metodického postupu**

- Citlivost/limit detekce (LOD), opakovatelnost a účinnost

Ředění	Teoretické množství kopií ^a	Získané množství kopií ^b		Počet pozitivních vzorků /celkový počet analyzovaných vzorků	Účinnost (%)
		Průměr	SD ^c		
1	5 000 000	3 555 500	2 029,66	12/12	59,43
2	500 000	307 403	2 544,28	12/12	42,64
3	50 000	29 715	304,42	12/12	35,41
4	5 000	974	21,29	12/12	19,48
5	2 500	914	62,38	12/12	36,56
6	1 250	80	47,07	12/12	6,40
7	500	-	-	4/12	-

^a Množství kopií viru, které bylo stanoveno použitím RT-qPCR.

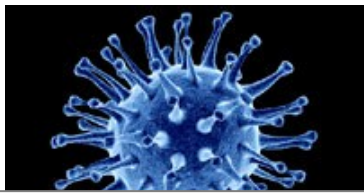
^b Skutečné množství kopií bylo získáno podle příslušné kalibrační křivky zařazené v každém experimentu, následně byl spočítán průměr a směrodatná odchylka.

^c Směrodatná odchylka.

- **LOD** - 1 250 GE/500 ml, tzn. 2,5 GE/1 ml odpadní vody

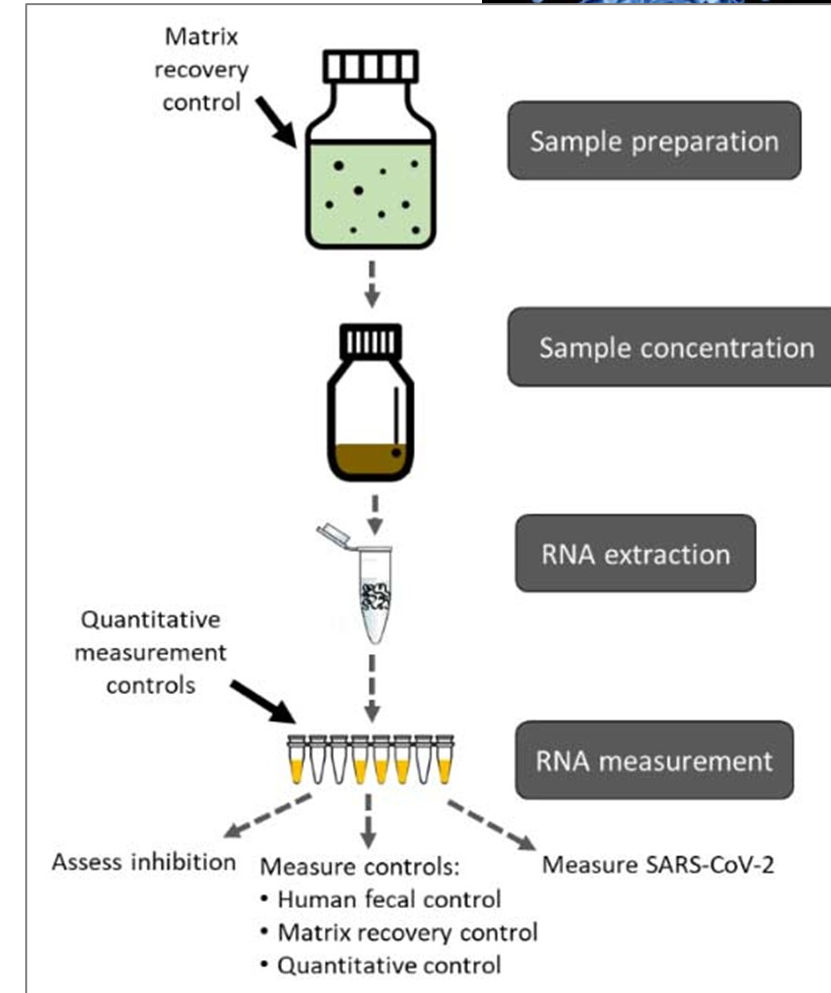
- **Specifita** - Alphacoronavirus 1 (CAPM V-346, TGEV), Canine coronavirus (CAPM V-485), Avian coronavirus (CAPM V-440), Betacoronavirus 1 (Bovine coronavirus CAPM V 326), Porcine hemagglutinating Encephalomyelitis virus (CAPM V-316), Human adenovirus 2 (CAPM V-665), Human respiratory syncytial virus (NCPV, Catalogue No. 0012031v), Human rhinovirus (NCPV, Catalogue No 930), Influenza A (NCPV, Catalogue No 878), Influenza B (NCPV, Catalogue No 797).

Metodický postup



- **Mezilaboratorní porovnání**

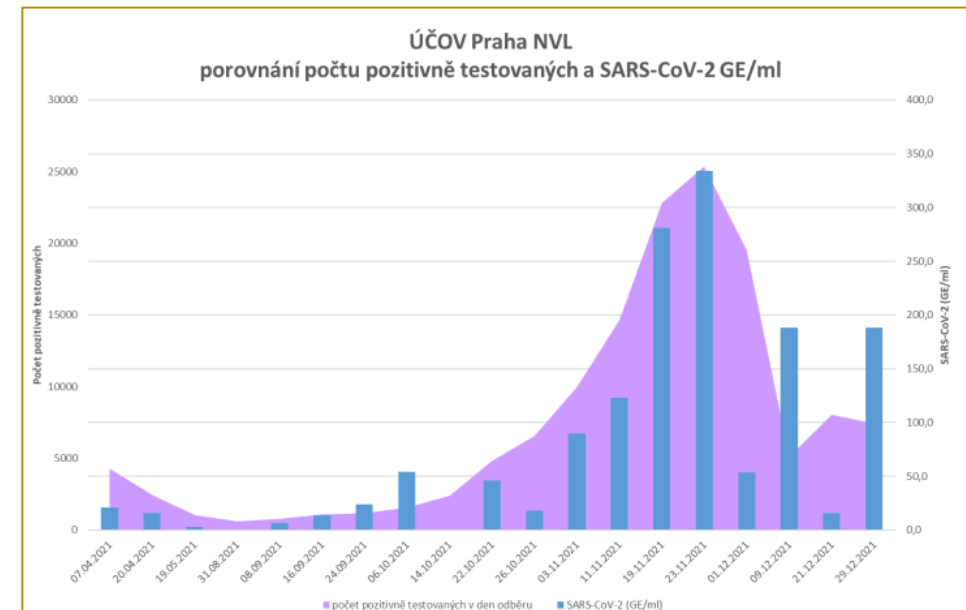
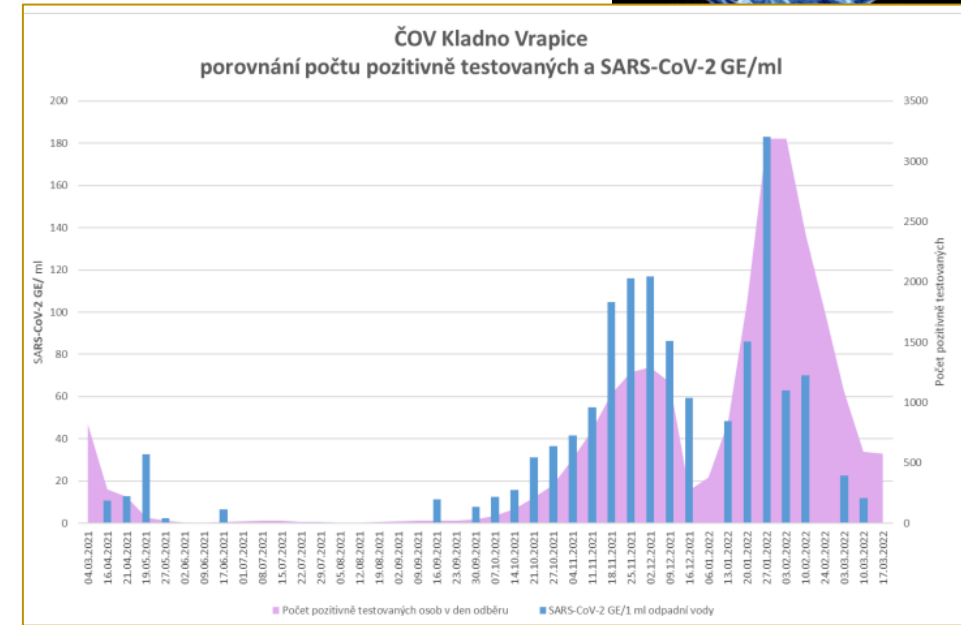
- pořadatel - Laboratoř hygieny půdy a odpadů, SZÚ
- účastníci - laboratoř Virologie potravin a prostředí a Zkušební laboratoře Ústavu biochemie a mikrobiologie (VŠCHT)
- vyhovující z-skóre: $|z| \leq 2$



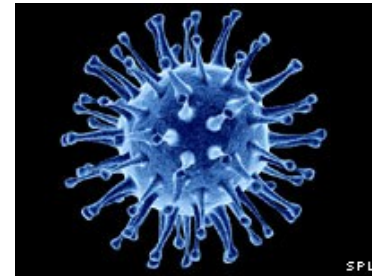
<https://www.cdc.gov/nwss/testing.htm>

Metodický postup

- **Řádná interpretace výsledků**
 - statistická analýza
 - epidemiologická data
 - faktory ovlivňující výsledky – srážky, chemické parametry, množství odpadních vod (faktor ředění srážky), podíl průmyslových odpadních vod, délka kanalizační sítě, počet obyvatel napojených na ČOV, varianta viru, roční období, četnost vzorkování, počet „napojených“ obyvatel atd.



Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)



Predikce vzniku a vývoje epidemie

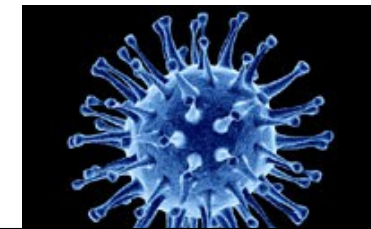
- RNA SARS-CoV-2 v odpadních vodách je možné detekovat dříve, než je prokázána klinickými testy
- k dosažení pozitivní detekce RNA SARS-CoV-2 v odpadních vodách – min. 4-17 (medián 8), 9-43 (medián 18) a 17-97 (medián 38) denně hlášených nových případů covid-19/100 000 obv. pro hladiny pravděpodobnosti 50 %, 80 % a 99 %

Nástroj molekulární epidemiologie

- stanovení/sledování variant agens v populaci



Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE)



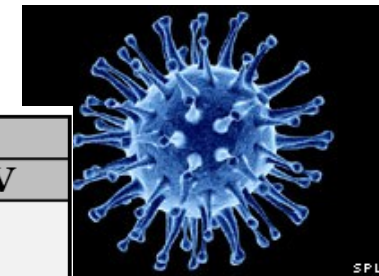
Genom	Čeleď	Zástupci	Klinické příznaky
ds DNA	<i>Adenoviridae</i>	adenovirus sérotyp 40/41	zvracení, průjem (zejména děti)
	<i>Polyomaviridae</i>	JC polyomavirus	neurologické příznaky
ds RNA	<i>Reoviridae</i>	rotavirus (genoskupina A)	zvracení, průjem (zejména děti)
+ss RNA	<i>Astroviridae</i>	lidský astrovirus sérotyp 1	zvracení, průjem (zejména děti)
	<i>Caliciviridae</i>	norovirus GI a GII	zvracení, průjem
	<i>Hepeviridae</i>	virus hepatitidy E	hepatitida
	<i>Picornaviridae</i>	virus hepatitidy A, poliovirus, enterovirus A 71, aichivirus	hepatitida, neurologické příznaky, obrna, myokarditidy, průjem

ČOV (odběr vzorků – vstup/výstup, 4 , 2019)

Agens	Lokalita 1 (vstup/výstup)				Lokalita 2 (vstup/výstup)				Lokalita 3 (vstup/výstup)				Lokalita 4 (vstup/výstup)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
AdV	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
NoV GI	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/-
NoV GII	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	-/+	-/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-
HAV	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
HEV	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

Spolupráce DEKONTA

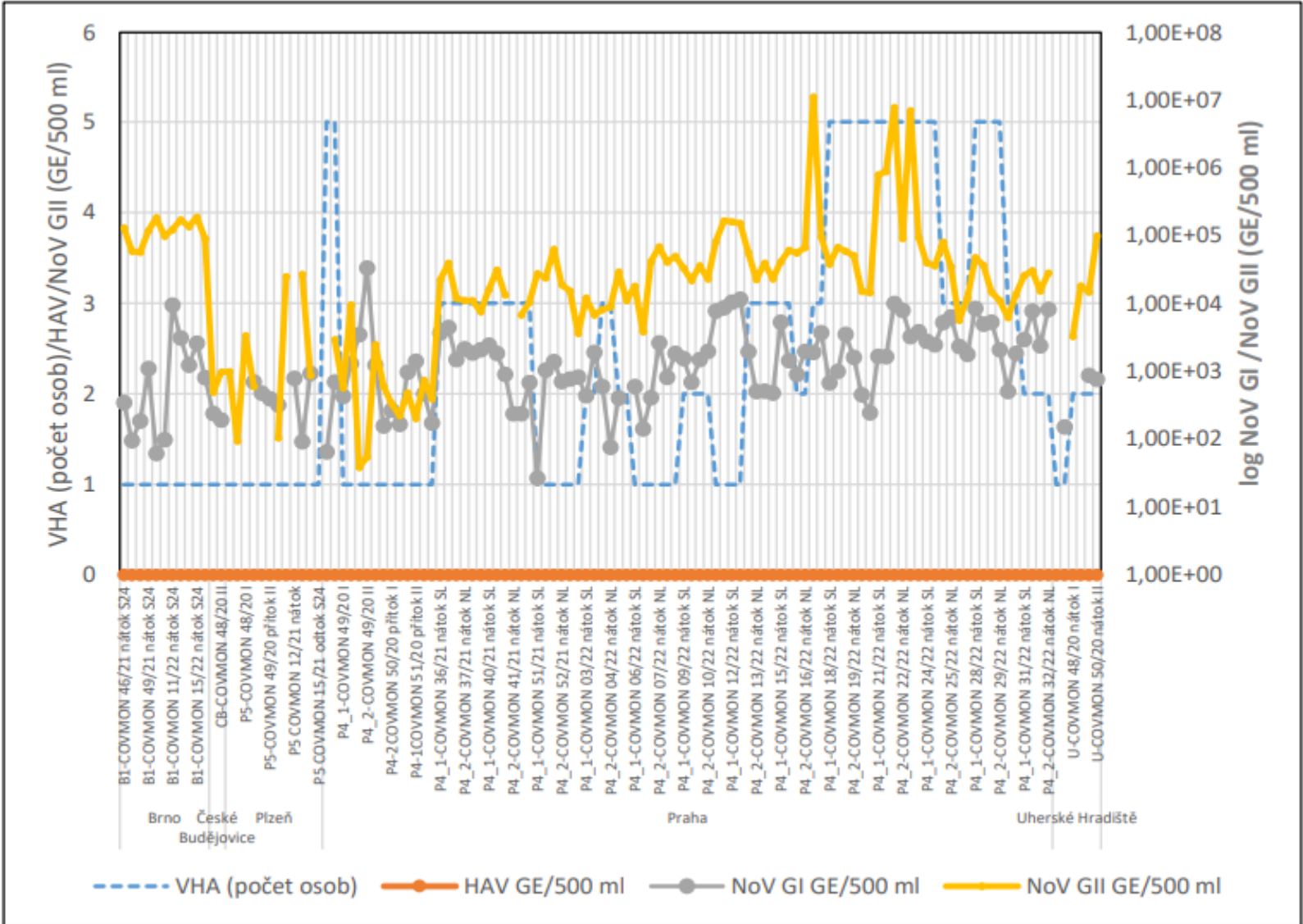
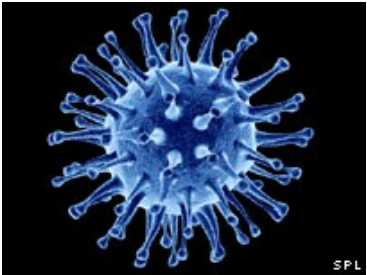
Výsledky projektu SOVAK



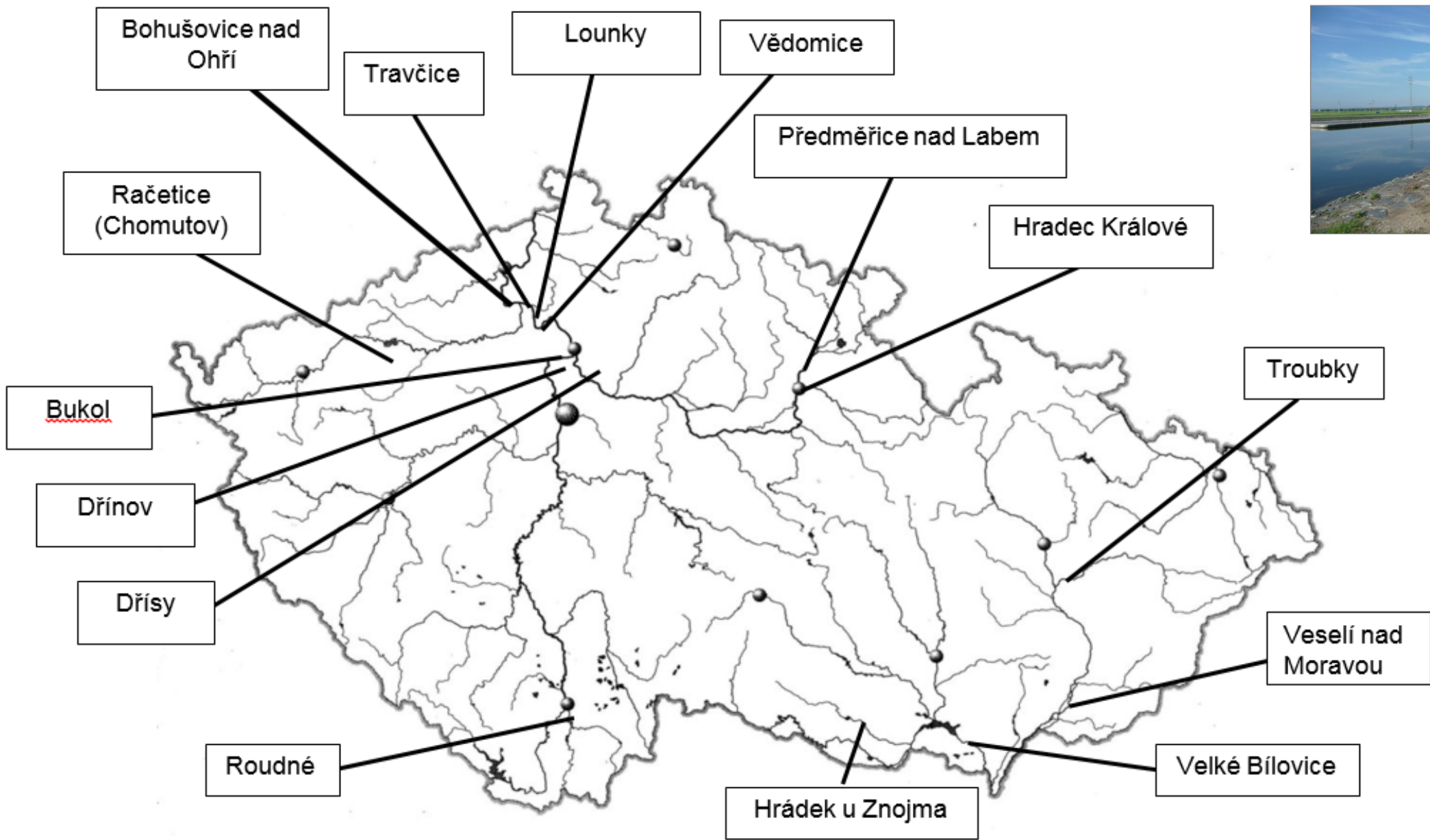
1. odběr						2. odběr					
Vz.č.	NoV GI	NoV GII	HAV	HEV	AdV	Vz.č.	NoV GI	NoV GII	HAV	HEV	AdV
1	-	-	-	-	+	29	-	-	-	-	+
2	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-	+
3	-	-	-	-	+	31	-	-	-	-	+
4	-	-	-	-	+	32	-	-	-	-	+
5	-	-	-	-	+	33	+	+	-	-	+
6	-	-	-	-	+	34	-	-	-	-	+
7	+	+	-	-	+	35	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	+	36	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	+	37	-	-	-	-	+
10	-	-	-	-	+	38	-	-	-	-	+
11	-	-	-	-	+	39	-	-	-	-	+
12	-	+	-	-	+	40	-	-	-	-	+
13	+	+	-	-	+	41	-	-	-	-	+
14	-	+	-	-	+	42	-	-	-	-	+
15	+	+	-	-	+	43	-	+	-	-	+
16	+	-	-	-	+	44	-	+	-	-	+
17	-	-	-	-	+	45	-	-	-	-	+
18	-	-	-	-	+	46	-	-	-	-	+
19	+	+	-	-	+	47	+	+	-	-	+
20	-	-	-	-	+	48	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	+	49	-	-	-	-	+
22	-	-	-	-	+	50	-	-	-	-	+
23	-	-	-	-	+	51	-	-	-	-	+
24	-	-	-	-	+	52	-	-	-	-	+
25	-	-	-	-	+	53	-	-	-	-	+
26	-	-	-	-	+	54	-	-	-	-	+
27	-	-	-	-	+	55	-	-	-	-	+
28	-	-	-	-	+	56	-	-	-	-	+

- negativní
 + pozitivní výsledek
 NoV - noroviry
 HAV - virus hepatitidy A
 HEV- virus hepatitidy E
 AdV - adenoviry,
 indikátory fekálního
 znečištění

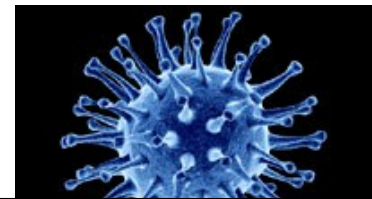
Výsledky projektu BV



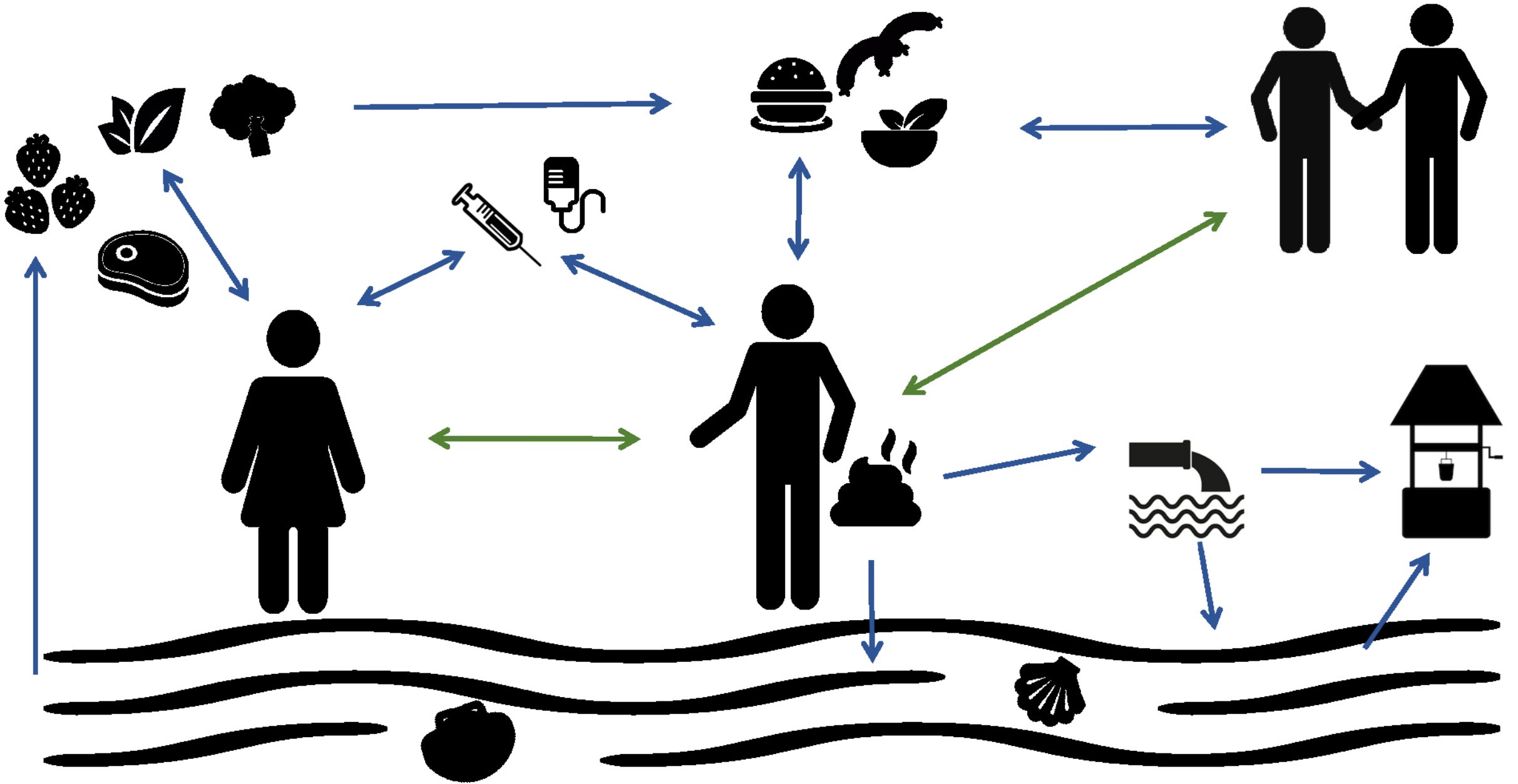
Obr. 6 Výskyt specifických oblastí genu virů HAV, NoV GI a NoV GII v odpadních vodách (2020-2022).



Povrchová voda ČR (odběr jaro/podzim, 2018-2019)



Lokalita	AdV		NoV GI		NoV GII		HAV		HEV	
	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019	2018	2019
I	+/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
II	+/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
III	+/+	+/+	-/-	-/+	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-
IV	+/-	+/+	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
V	+/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
VI	+/+	-/+	-/-	-/+	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-
VII	+/+	+/-	-/+	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
VIII	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
IX	+/+	+/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
X	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
XI	+/+	+/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
XII	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-
XIII	-/+	+/+	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
XIV	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
XV	+/+	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-



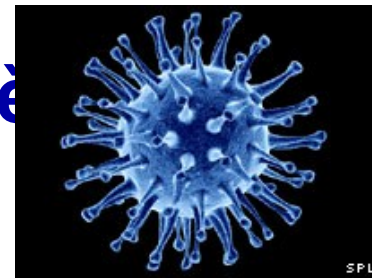
Odolnost virů souvisejících s alimentárním onemocněním



- Odolnost vůči vlivům vnějšího prostředí (chlad, acidorezistence, běžné desinfekční postupy) → persistence dny, měsíce, roky

Matrice	Teplota	Doba „přežití“	Virus
Hlávkový salát, jahody, šunka	4 , 10 a 21°C	> 7 dní	NoV
Voda, mléko	63 a 72 °C	10 min	NoV, HAV
Borůvky, maliny, jahody, bazalka, petržel	- 20°C	90 dní	NoV, HAV
Zelí, hlávkový salát	4, 25 a 37°C	21 dní	NoV, HAV
Podzemní voda	10°C	2 roky	NoV
Povrchová voda	4/22 °C	> 42 dní/42 dní	NoV

Odolnost virů souvisejících s alimentárním onemocněním



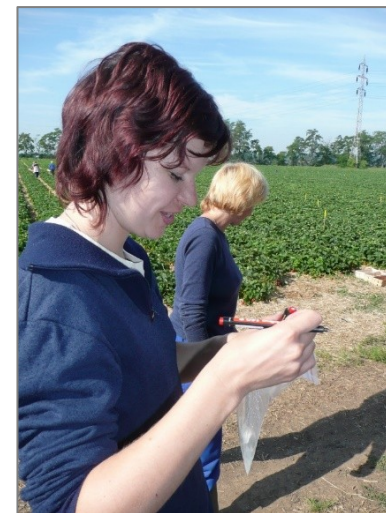
- Odolnost vůči vlivům vnějšího prostředí (chlad, acidorezistence, běžné desinfekční postupy) → persistence dny, měsíce, roky

Proces	Matrice	Vliv
90°C/90 s	mlži	inaktivace
Oplach	drobné ovoce, listový salát	redukce 1,5 log
Tlak 375 MPa/21°C/5 min	ovocné šťávy	redukce 4,3 log
Okyselení (pH 3)	ovocné šťávy	téměř bez efektu
UV	voda	redukce 1 - 5 log (závislost na čistotě vody; 100 mJ/cm ²)
Chlorování	voda	redukce 2 log (závislost na čistotě vody; 0,41 mg/L)

Povrchová voda ČR (zelenina)

Farmy	NoV	HAV
Zelenina	1/318	0/318
Voda	1/12	0/12
Prostředí (stěry)	0/58	0/58
Bylinky	4/115	0/115
Voda	5/14	0/14
Prostředí (stěry)	2/80 (ruce sběračů)	0/80

Projekt MZe QJ121
spolupráce ZÚČM

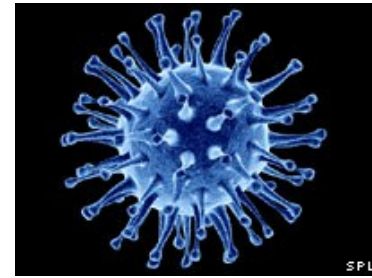


Povrchová voda ČR (drobné ovoce)

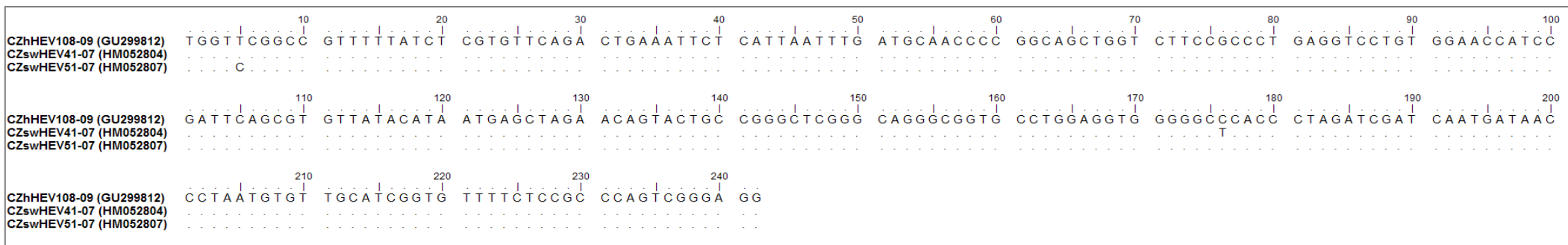
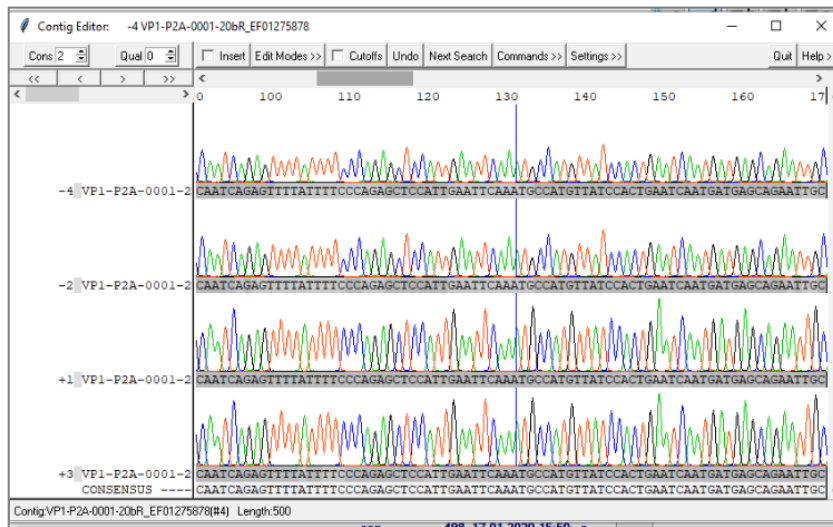


Farmy	NoV	HAV
Jahody	2/156	0/156
Voda	3/23	0/23
Prostředí (stěry)	3/218 (ruce sběračů, toalety)	0/218
Tržní síť		
Jahody CZ	0/45	0/45
Jahody dovoz	1/24	0/24
Ovoce mrazené	0/72	0/72
Ostatní (maliny, borůvky, ostružiny)	1/83	0/83

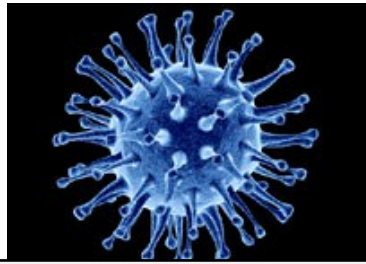
Molekulární epidemiologie



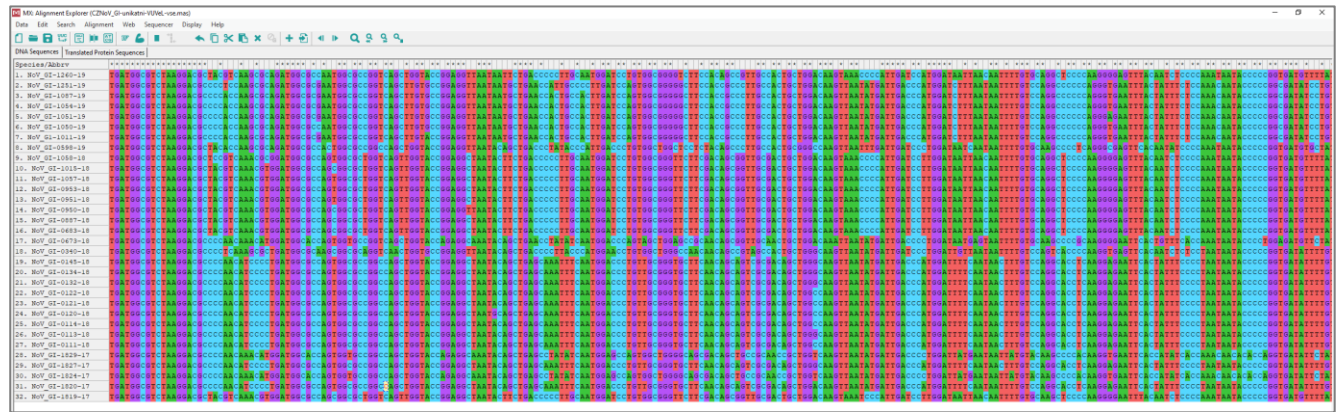
- Snaha o dosledování vehikula/zdroje kontaminace
- Potvrzení/vyvrácení epidemiologických souvislostí
- Porovnání sekvencí genomu virových agens prokázaných u lidí prostředí potravin



Noroviry - pitná voda, epidemiologické souvislosti

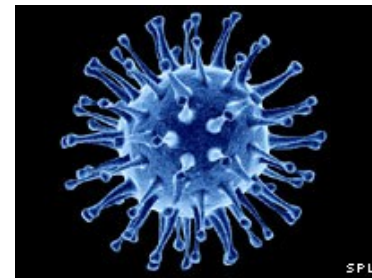


	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
NoV GI	5 / 10	2 / 14	6 / 32	6/40	3/26	2/23	2/44
NoV GII	5/10	1/ 14	9 / 32	5/40	0/26	1/23	1/44



Spolupráce KHS, podpora grantu MZ 17-31921A

Virus hepatitidy A – epidemiologické souvislosti



- **Epidemie VHA (Liberecký kraj)**

- voda vstup, výstup z komunální ČOV – HAV +
- čistírenské kaly – HAV +
- sekvenčně shoda s kmenem prokázaným u tamních VHA pacientů

- **Epidemie VHA (Moravskoslezský kraj)**

- voda výstup z domácí ČOV – HAV +
- pitná voda (blízká studna) – HAV +
- sekvenčně shoda s kmenem prokázaným u uživatelů studny
- přenos pitnou vodou podpořen epidemiologickými daty

