



RNDr. Jana
Prodělalová, Ph.D.,
odborná pracovnice



Mgr. Romana
Moutelíková,
Ph.D.,
vědecká pracovnice



Mgr. Eliška
Čukanová,
doktorandka

Přežívání enteroviru A v cukerném sirupu jako modelu pro viry včely medonosné

J. PRODĚLALOVÁ, R. MOUTELÍKOVÁ, E. ČUKANOVÁ
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

SOUHRN

Prodělalová J., Moutelíková R., Čukanová E. **Přežívání enteroviru A v cukerném sirupu jako modelu pro viry včely medonosné.** Veterinářství 2024;74(9):506-509.

Studium účinnosti inaktivačních postupů je v případě virů často limitováno nedostupností vhodného experimentálního modelu založeném na systému kultivovatelného viru a permanentní buněčné linie, na které lze virus pomnožovat. Proto je nutné volit tzv. náhradní virus, který ovšem musí splňovat následující kritéria: příslušnost k taxonu, dostatečná odolnost viru v testovacích podmínkách, schopnost pomnožovat se na buněčné linii do dostatečně vysokého titru a bezpečnost pro personál, aby nebylo potřeba s virem pracovat v zabezpečené laboratoři. Na základě výše uvedených kritérií jsme pro testování zvolili lidský *Enterovirus A 71* (EVA71). Ten se strukturně podobá včelímu viru černání matečnicků a stejně jako u mnoha dalších virů včely medonosné se jedná o malý neobalený virus s genomem tvořeným jednořetězcovou RNA a zařazený do řádu Picornavirales. EVA71 vykázal značnou stabilitu a schopnost dlouhodobě přežít za běžných venkovních teplot v cukerném sirupu.

Klíčová slova: termální stabilita; dlouhodobé skladování; náhradní virus; chov včel

SUMMARY

Prodělalová J., Moutelíková R., Čukanová E. **Persistence of enterovirus A in sugar syrup as a model for honeybee viruses.** Veterinářství 2024;74(9):506-509.

Testing of the effectiveness of inactivation of viruses is limited by the unavailability of a suitable experimental model based on the cultivable virus and a permanent cell line. Therefore, it is necessary to choose a surrogate. The surrogate should meet the following criteria: taxonomic relatedness, resistance of the surrogate under the test conditions, the ability to grow on a cell line to a sufficiently high titre and safety for laboratory workers. Thus, we chose human *Enterovirus A 71* (EVA71) for testing. It is structurally similar to the black queen cell virus and, like most of honey bee viruses, it is a small, non-enveloped virus with a single-stranded RNA genome; classified into the Picornavirales order. EVA71 showed both significant stability and the ability to long-term survival in sugar syrup.

Keywords: thermal stability; long-term storage; surrogate virus; beekeeping

Úvod

Virová onemocnění již považujeme za nedílnou součást chovu včely medonosné. Omezování jejich negativního vlivu na včelstva spočívá především v dodržování podmínek chovu odpovídajících biologickým požadavkům tohoto druhu hmyzu a v opatřeních zabráňujících vzniku a šíření nemocí.

V oblasti hygieny chovu lze v rámci boje s virózami aplikovat zejména opatření omezující výskyt infekčních virových částic na površích chovatelského zařízení včetně vybavení a používaných pomůcek. Pro jejich dezinfekci lze využít postupy založené na aplikaci chemického dezinfekčního příprav-

ku, případně u sacharidových zásob v plástech účinku suchého tepla.¹ Otázka opětovného použití sacharidových zásob, ve kterých lze v závislosti na situaci v chovu předpokládat výskyt infekčních virových částic vzhledem k jejich v literatuře popsanému přenosu alimentární cestou, je často včelaři diskutována. Většina včelích virů je běžně vylučována výkaly, a proto je orofekální přenos běžný jak v rámci jednoho včelstva, tak i mezi včelstvy. Přenos nejčastěji probíhá mezi včelou a prostředím, kdy včely kálí mimo úl a výkaly kontaminují navštěvované kvetoucí rostliny. Za určitých okolností mohou včely kálet také v úle a kontaminované úlové prostředí se opět stává zdrojem virů.^{2,3} Stejně tak je

často kladen dotaz na schopnost přežívání včelích virů při chladírenské teplotě po delší časové úseky. Zjišťování schopnosti včelích virů přežít v různých podmínkách prostředí však naráží na metodické limity. Viry včely medonosné nelze standardně pomnožovat na permanentních buněčných liniích, a to zejména z důvodu nedostupnosti vnímavé buněčné linie a vhodného virového kmene schopného se na ní pomnožovat.⁴ V současné době je popsáno více než 1000 hmyzích buněčných linií, které jsou velmi přínosné pro studium hmyzích virů za definovaných podmínek. Většina z nich je však derivována ze zástupců řádů dvoukřídlých (Diptera) a motýlů (Lepidoptera).⁵ Buněčné linie derivované ze zástupců blanokřídlých jsou dostupné ve velmi omezené míře. Dostupná, včelími viry nekontaminovaná permanentní buněčná linie derivovaná z buněk včely medonosné by představovala zásadní přínos pro výzkum v oblasti virologie včely medonosné.⁴ Tento přínos spočívá zejména v eliminaci environmentální variability, která ovlivňuje experimenty prováděné na včelstvech.⁶ Velkým problémem existujících včelích permanentních linií je jejich kontaminace viry. Jedna z mála dostupných včelích buněčných linií AmE-711, derivovaná z včelích embryí, je perzistentně infikována virem deformovaných křídel (DWV); pravděpodobně byla kontaminována již původní embrya.⁶ Nejpravděpodobnější příčinou kontaminace je vysoká prevalence DWV ve včelstvech. Virus se přenáší vertikálně a kontaminuje povrch vajíčka.⁴ Další dostupnou a bohužel také DWV infikovanou včelí buněčnou linií je MYN9, která byla připravena z buněk larvy staré 3 až 5 dnů genovým transferem lidského protoonkogenu *c-myc*.⁷ Kontaminaci buněčných linií derivovaných ze včely medonosné lze zabránit jen velmi obtížně, jednou z mála možností je důsledné testování zdrojového materiálu citlivými PCR nebo sekvenačními metodami, průkaz virových částic pomocí elektronového mikroskopu nemusí být dostačující.⁶

Vzhledem k výše uvedenému je časově i finančně nejvýhodnější používat pro testování antivirových dekontaminačních postupů založených na fyzikálních i chemických principech tzv. náhradní viry. Jedná se o hojně využívaný princip, kdy namísto cílového viru se použije virus modelový, který vykazuje uživatelsky příznivější vlastnosti. Jedná se zejména o následující kritéria: (1) příslušnost k taxonu, a tudíž jistá míra podobnosti s cílovým virem, zejména ve struktuře, velikosti, složení a morfologii; (2) dostatečná odolnost viru v testovacích podmínkách; (3) schopnost pomnožovat se na buněčné linii do vysokého titru; (4) bezpečnost pro personál, aby nebylo potřeba s virem pracovat v zabezpečené laboratoři.⁸ Náhradní viry jsou běžně využívány pro testování dezinfekčních prostředků v kvantitativním suspenzním testu i testu na nosičích.⁹ Další oblastí jejich častého použití je testování stability virů v různém prostředí, např. v potravinách nebo odpadních vodách.^{10,11} Na základě výše uvedených kritérií jsme pro testování zvolili lidský *Enterovirus A 71* (EVA71). Ten se některými vlastnostmi podobá včelímu viru černání matečnicků a stejně jako u mnoha dalších virů včely medonosné se jedná o malý

neobalený virus s genomem tvořeným jednořetězcovou RNA a zařazený do řádu Picornavirales.¹²

Cílem práce bylo stanovit schopnost dlouhodobého přežívání modelového enteroviru EVA71 v cukerném sirupu při chladírenské teplotě (+11 °C) a predikovat tak míru virové kontaminace v sacharidových zásobách po uskladnění v chladírně.

Materiál a metody

Jako testovací virus byl použit lidský enterovirus 71 (EVA71, rod *Enterovirus A*, čeleď Picornaviridae), kmen MY104-9-SAR-97, získaný ze Sbírký zoopatogenních mikroorganismů (CAPM), katalogové číslo CAPM V-677. Virová suspenze byla připravena kultivací EVA71 na vnímavé buněčné linii VERO (odvozena z epiteliálních buněk ledvin kočkodana obecného, *Cercopithecus aethiops*). Pro kultivaci VERO buněk bylo použito minimální esenciální médium (DMEM, Biosera, Francie) suplemenované 10 % fetálního telecího séra (FBS, HyClone Laboratories, Cramlington, Velká Británie). Testovací suspenze EVA71 byla připravena kultivací viru na jednobuněčné vrstvě buněčné linie VERO staré 24 hodin při teplotě 37 °C v atmosféře s 5 % CO₂. V okamžiku zamražení vykazovala kultura přítomnost cytopatického efektu (CPE) na 80 % plochy. Kultura byla dvakrát zamrazena (–80 °C) a rozmrazena, pro odstranění zbytků buněk byla virová suspenze odstředěna při 1500 x g po dobu 10 minut. Virová suspenze byla zakoncentrována pomocí Pierce™ Protein Concentrator 30K MWCO (Thermo Scientific, USA). Alikvoty byly uchovány při –80 °C.

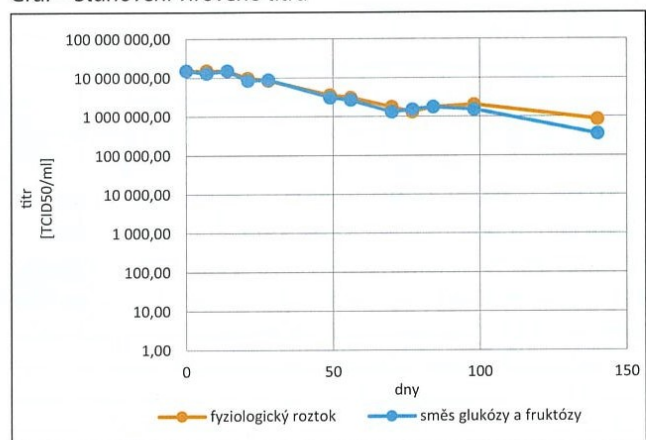
Pro testování přežívání modelového EVA71 byl smíchán zásobní virus s roztokem glukózy (p. a., Penta, ČR) a fruktózy (p. a., Penta, ČR) a poměru 1 : 1 o výsledné koncentraci 84 % v destilované vodě. Kontrolní experiment probíhal ve sterilním pufovaném fyziologickém roztoku (DPBS, Biosera, Francie). Do připraveného roztoku směsi sacharidů nebo DPBS byl přidán EVA71 tak, aby výsledná koncentrace viru byla alespoň 10^{7,0} TCID₅₀/ml a koncentrace roztoku sacharidů neklesla pod 80 %. Hodnota TCID₅₀ je definována jako množství 50% infekční dávky suspenze viru nebo takové zředění suspenze viru, které vyvolá CPE v 50 % jednotek buněčných kultur.¹³ Testovací směs byla rozdělena do alikvotů po 400 µl a po dobu experimentu uložena do termostatu s konstantní teplotou +11 °C. Stanovení virového titru probíhalo ode dne zahájení experimentu vždy ve čtyřech nezávislých biologických opakováních v pravidelných intervalech. Přítomnost a množství infekčních virových částic v jednotlivých odběrech byla stanovena pomocí titrační metody. Cytopatický efekt by odečítán mikroskopicky po pěti dnech inkubace. Faktor redukce (tzn. změna titru mezi jednotlivými odběry) se počítá jako log₁₀ ze získané hodnoty TCID₅₀/ml (viz graf).¹³

Výsledky

Experiment probíhal po dobu 140 dnů. Počáteční titr EVA71 ve směsi sacharidů simulujících medové zásoby

byl $10^{7.2}$ a v kontrolním DPBS shodně $10^{7.2}$ TCID₅₀/ml. Po uplynutí doby experimentu byl titr EVA71 ve směsi sacharidů simulujících medové zásoby $10^{5.6}$ a v kontrolním DPBS $10^{5.9}$ TCID₅₀/ml. Faktor redukce mezi prvním (0 dnů) a posledním (140 dnů) odběrem činil u směsi sacharidů 1,6; v kontrolním DPBS 1,3. Titr viru v testovacím roztoku sacharidů, tedy mezi začátkem a koncem experimentu, klesl o necelé dva logaritmické řády, tj. maximálně o 99 %. Průběh poklesu virového titru v čase je zaznamenán v grafu a tabulce.

Graf – Stanovení virového titru



Tabulka – Průběh poklesu virového titru v čase při skladování modelového EVA71 při +11 °C.

Dny	Směs glukózy a fruktózy	Fyziologický roztok
0	15 399 265,26	15 399 265,26
7	13 335 214,32	15 399 265,26
14	15 399 265,26	15 399 265,26
21	8 659 643,23	10 000 000,00
28	9 067 759,65	8 659 643,23
49	3 162 277,66	3 651 741,27
56	2 738 419,63	3 162 277,66
70	1 333 521,43	1 778 279,41
77	1 539 926,53	1 333 521,43
84	1 778 279,41	1 778 279,41
98	1 539 926,53	2 053 525,03
140	365 174,13	865 964,32

Diskuse

Způsoby, jak omezit dopad infekčních onemocnění na chovy hospodářských zvířat, jsou limitovány zejména vlastnostmi konkrétního infekčního agens a použitím dostupných opatření pro jeho kontrolu a případnou prevenci.¹⁴ Pro přenos infekčního onemocnění virového původu má význam virus samotný, hostitel a prostředí; přičemž prostředí se považuje za nejkomplikovanější faktor.¹⁵ Řád Picornavirales a zejména čeleď Picornaviridae zahrnuje řadu významných původců humánních i veterinárních onemocnění, často izolovaných z pitných, odpadních i mořských vod, půdy, potravin a aerosolu. Z toho důvodu je stabilita pikornavirů v prostředí čas-
tým předmětem výzkumu.¹⁵ Jedním z nejčastěji studo-

vaných pikornavirů je virus hepatitidy A (HAV), původce infekční žloutenky, který v souhrnu vykazuje významný pokles infekčního titru o 2,5 až 5 logaritmických řádů při působení teploty 70 až 72 °C po dobu 2 minut. Významnou roli ve zvyšování teplotní stability HAV hraje přítomnost organického materiálu, který plní ochrannou funkci. Další faktory ovlivňující teplotní stabilitu jsou délka působení teploty a v neposlední řadě také použitý testovací kmen.¹⁶ Přežívání virů může být významně ovlivněno také vznikem termostabilních mutantů, což bylo prokázáno u dalšího klinicky významného pikornaviru, původce dětské obrny.¹⁷ V naší předchozí práci jsme studovali přežívání EVA71 ve včelím medu při teplotách +6, +22 a +50 °C po dobu 25 dnů. Při nejnižší sledované teplotě +6 °C nedošlo k významnému poklesu virového titru, při teplotě +22 °C byl faktor redukce 1,5.¹⁸ Med neměl v této studii vliv na přežívání EVA71,¹⁸ přestože vykazuje velké množství zdravotních benefitů včetně antimikrobiálních vlastností. Antivirové vlastnosti medu jsou popisovány zejména u jednodruhových medů z určitých rostlin a v *in-vitro* studiích se omezují především na obalené viry, jako jsou virus chřipky, HIV, SARS-CoV-2, herpes simplex virus.¹⁹ Jedním z medů s prokázaným antivirovým účinkem je manukový med původem z rostliny balmín metlatý (*Leptospermum scoparium*), která pochází z oblasti jihovýchodní Austrálie a Nového Zélandu a je více známá pod názvem manuka. Konkrétní látky zodpovědné za antivirový účinek však doposud nebyly identifikovány, a to i přesto, že antibakteriální složky medu již byly popsány.²⁰ Vzhledem k tomu, že včelí viry i modelový EVA71 jsou typickými zástupci odolných malých neobalených virů, nebrali jsme na případné antivirové účinky tuzemských medů ohled a jako model sacharidového prostředí jsme zvolili definovanou směs glukózy a fruktózy. Včelí dicistroviry a iflaviry vykazují shodné základní vlastnosti, jako je velikost a základní charakteristiky virionu a typ genomu, s pikornaviry včetně modelového EVA71. Mimo tyto shodné charakteristiky je EVA71 snadno kultivovatelný na permanentní buněčné linii, dorůstá do vysokého titru a lze s ním pracovat v běžné virologické laboratoři. Splňuje tak požadavky kladené na náhradní viry. Je však zřejmé, že mezi hmyzími iflaviry a dicistroviry na jedné straně a savčími pikornaviry na straně druhé lze nalézt rozdíly. Jedná se zejména o odlišné vlastnosti kapsidy.¹² Většina zástupců rodu *enterovirus* je stabilní v kyselém prostředí do pH 3, výjimku představují pouze rhinoviry.²¹ Zcela výjimečnou stabilitu má v rámci rodu *Enterovirus* již zmiňovaný HAV, který je po dobu několika hodin schopen zůstat infekční i v prostředí s pH 1.²² Dicistroviry, kam je ze skupiny virů včely medonosné řazen komplex virů akutní paralýzy a virus černání matečnicků, jsou také považovány za stabilní v kyselém prostředí až do hodnoty pH 3.²³ U zástupců čeledi Iflaviridae, jako jsou virus deformovaných křídel, virus pytlíčkovitosti plodu a virus pomalé paralýzy včel, nebyla stabilita v kyselém prostředí doposud stanovena.²⁴ Zajímavým zjištěním však je fakt, že nízké pH indukuje konformační změny virionu

včelích iflavirů, které následně vedou k otevření kapsidy a uvolnění virového genomu.²⁵ Je proto otázkou, jak se budou iflaviry chovat v případě kontaminace sacharidových zásob včelstev, kdy pH medu se pohybuje v rozmezí 3,2 až 4,5.²⁶ K definitivnímu poznání stability včelích virů v sacharidových zásobách však lze dospět pouze za předpokladu existence zástupců včelích virů kultivovatelných na permanentních buněčných liniích, což je prozatím bohužel nedosažitelný cíl.

Savčí viry jsou běžně využívány jako náhradní viry a jejich přínos pro stanovení antivirových účinků je nesporný. Metody založené na náhradních virech jsou běžnou součástí norem v Evropě i v USA. Vždy je však nutné brát v úvahu, že se jedná o modelovou situaci v přesně definovaných laboratorních podmínkách. Problematické je zejména použití jednoho testovacího kmene, protože odolnost virů se může lišit i v rámci druhu, jak bylo popsáno u parvovirů.⁸ Při testování postupů pro inaktivaci virů, zejména dezinfekčních prostředků, s využitím náhradních virů hraje významnou roli také adheze virionů na ošetřované povrchy. To má význam typicky u enterálních virů, které často kontaminují inertní povrchy nebo povrchy ovoce a zeleniny a snadno se šíří orofekální cestou. Schopnost virů adherovat na povrchy se stanovuje velmi obtížně díky často chybějícím informacím o vlastnostech povrchu virionu, situaci komplikuje také schopnost virů vytvářet shluky.²⁷ Termální inaktivace virů bývá nejčastěji testována za laboratorních podmínek v souvislosti s bezpečností potravin a nápojů. Průběh termální inaktivace je vždy závislý na typu použitého modelového viru, organické matici, která virus obklopuje, a v neposlední řadě na zvoleném postupu. Ověření a standardizovaný postup nevylučuje využití vhodně zvoleného náhradního viru, což je zejména u obtížně kultivovatelných virů zcela zásadní.²⁸

Závěr

Vzhledem k experimentálně prokázané schopnosti modelového EVA71 dlouhodobě přežívat v cukerném sirupu při chladírenské teplotě je pravděpodobné, že původci včelích viróz, klasifikovaní stejně jako EVA71 v řádu Picornavirales, budou vykazovat obdobnou schopnost přežívání. Viry se takto mohou přenášet na včelstva, kterým bude kontaminovaná potrava zkrmena. V konečném důsledku může být tato infekce pro včelstvo likvidační, proto je zásadní správně vyhodnotit zdravotní stav daného včelstva. Riziku by ovšem zcela zamezilo tepelné ošetření sacharidových zásob,¹ které je ovšem v současných podmínkách obtížně proveditelné. Detailní informace o výskytu a množství včelích virů v sacharidových zásobách v podmínkách tuzemských chovů včel však doposud nebyly systematicky zjišťovány, a proto se studie zaměřená na tuto problematiku stala dalším cílem našeho výzkumu.

Poděkování

Práce byla finančně podpořena projekty TA ČR TN02000017 a MZe RO0523

Literatura:

1. PRODĚLALOVÁ, J. A. TITĚRA, D. Včely a viry: Metodický postup pro dekontaminaci a včelařských pomůcek a chovatelského zařízení. https://www.vri.cz/wp-content/uploads/2021/06/VUVEL-Certifikovana_metodika-78_Viry_a_vcely-Metod_postup_pro_dekont_chov_zariz_a_vcelar_pomucek-a.pdf.
2. YAÑEZ, O., PIOT, N., DALMON, A. et al. Bee Viruses: Routes of infection in Hymenoptera. *Front Microbiol* 2020;11:934.
3. FIGUEROA, L. L., BLINDER, M., GRINCAVITCH, C., JELINEK, A., MANN, E. K., MERVA, L. A., et al. Bee pathogen transmission dynamics: deposition, persistence and acquisition on flowers. *Proc R Soc B* 2019;286:e20190603.
4. GUO, Y., GOODMAN, C. L., STANLEY, D. W. et al. Cell Lines for Honey Bee Virus Research. *Viruses* 2020;12:236.
5. LYNN, D. R. Novel techniques to establish new insect cell lines. *In Vitro Cell Dev Biol* 2001;37:319-321.
6. CARILLO-TRIP, J., DOLEZAL, A. G., GOBLIRSCH, M. J. et al. In vivo and in vitro infection dynamics of honey bee viruses. *Sci Rep* 2016;6:22265.
7. KITAGISHI, Y., OKUMURA, N., YOSHIDA, H. et al. Long-term cultivation of in-vitro *Apis mellifera* cells by gene transfer of human c-myc proto-oncogene. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2011;47:451-453.
8. MCDONNEL, G., HANSEN, J. Blocks' Disinfection, Sterilization, and Preservation, Sixth Edition, Wolters Kluwer, Philadelphia; USA, 2021:31.
9. STEINMANN, J. Surrogate viruses for testing virucidal efficacy of chemical disinfectants. *J Hosp Infect* 2004;56:549-554.
10. HEWITT, J., RIVERA-ABAN, M., GREENING, G. E. Evaluation of murine norovirus as a surrogate for human norovirus and hepatitis A virus in heat inactivation studies. *J. Appl Microbiol* 2009;107(1):65-71.
11. MONNOT, M., OLLIVIER, J., TALIGROT, H. et al. Retention of virus surrogate, by ultrafiltration in seawater: Case study of Norovirus versus Tulane. *Food Environ Virol* 2024;16:14-24.
12. SPURNY, R., PRÍDAL, A., PÁLKOVÁ, L. et al. Virion structure of black queen cell virus, a common honeybee pathogen. *J Virol* 2017;91(6):e02100-16.
13. DOUGHERTY, R., M. Animal virus titration techniques, In: Harris, R., J. C. (ed.) Techniques in Experimental Virology. Academic Press; New York, 1964:183-186.
14. MCDONNEL, G., HANSEN, J. Blocks' Disinfection, Sterilization, and Preservation, 6th Ed., Wolters Kluwer; Philadelphia, USA 2021:1034.
15. PIRTLE, E. C., BERAN, G. W. Virus survival in the environment. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 1991;10(3):733-748.
16. JOHNE, R., SCHOLZ, J., FALKENHAGEN A. Heat stability of foodborne viruses – Findings, methodological challenges and current developments. *Int J Food Microbiol* 2024;413:110582.
17. NGUYEN, Y., JESUDHASAN, P. R., AGUILERA, E. R. et al. Identification and characterization of a poliovirus capsid mutant with enhanced thermal stability. *J Virol* 2019;93(6):e01510-18.
18. PRODĚLALOVÁ, J., MALENOVSKÁ, H., MOUTELÍKOVÁ, R. et al. Virucides in apiculture: persistence of surrogate enterovirus under simulated field conditions. *Pest Manag Sci* 2017;73:2544-2549.
19. ASMA, S. T., BOBIŞ, O., BONTA, V. et al. General nutritional profile of bee products and their potential antiviral properties against mammalian viruses. *Nutrients* 2022;14:3579.
20. WATANABE, K., RAHMASARI, R., MATSUNAGA, A. et al. Anti-influenza viral effect of honey. In vitro: Potent high activity of Manuka honey. *Arch Med Res* 2014;45:359-365.
21. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) <https://ictv.global/report/chapter/picornaviridae/picornaviridae/enterovirus>.
22. SCHOLZ, E., HEINRICY, U., FHLEHMIG, B. Acid Stability of Hepatitis A virus. *J Gen Virol* 1989;70:2481-2485.
23. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) <https://ictv.global/report/chapter/dicistroviridae/dicistroviridae>.
24. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) https://ictv.global/report_9th/RNAPos/Picornavirales/Ifaviridae.
25. ŠKUBNÍK, K., SUKENÍK, L., BUCHTA, D. et al. Capsid opening enables genome release of iflaviruses. *Virology* 2021;7:eabd7130.
26. MANDAL, M. D. MANDAL, S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011;1(2):154-160.
27. DEBOOSERE, N., PINON, A., CAUDRELIER, Y. et al. Adhesion of human pathogenic viruses and surrogate viruses to inert and vegetal food surfaces. *Food Microbiol* 2012;32:48-56.
28. ARTHUR, S. E., GIBSON, K. E. Comparison of methods for evaluating the thermal stability of human enteric viruses. *Food Environ Virol* 2015;7:14-26.

Adresa autorky:

RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

Hudcova 70

621 00 Brno

e-mail: jana.prodelalova@vri.cz