



WAGENINGEN UR
For quality of life

Overleving pepinomozaïekvirus in kleding

Ineke Stijger, Roel Hamelink, Daniel Ludeking

Wageningen UR Glastuinbouw, Bleiswijk
Juli 2012

Rapport/Nota nummer



Z d j h q l j h q # K U # J o l v w l b e r x z #

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 48 56 06
Fax : 010 522 51 93
E mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Iqkrxgvr sj dyh#

	pagina
Samenvatting	1
1 Inleiding	3
1.1 Doel van het onderzoek	3
2 Proefopzet	5
2.1 Proef 1	5
2.2 Proef 2	6
2.3 Proef 3	6
2.4 Proef 4	7
3 Resultaten	10
4 Discussie en conclusie	12

Vdp hgydwlqj

In de teelt van tomaat kunnen een aantal virussen voor problemen zorgen, waarbij pepinomozaïekvirus de belangrijkste is. Dit virus is via zaad en mechanisch overdraagbaar. Overdracht vindt plaats bij gewashandelingen als snoeien en oogsten. Ook via besmet materiaal zoals mesjes, scharen, kleding, sieraden en fust is verspreiding mogelijk. Door een gebrek aan bestrijdingsmaatregelen vormt dit virus een terugkerend probleem. Het virusprobleem kan daarom alleen voorkomen worden door het nemen van hygiënemaatregelen.

Eén van de maatregelen is het wassen van kleding wat besmet is met pepinomozaïekvirus. In dit onderzoek zijn kledingstukken (T shirts en gastjassen) gewassen met een standaard witte was programma met wit wasmiddel. Daarbij is gewassen bij een gelijkblijvend programma bij drie verschillende wastemperaturen: 40°C, 60°C en 90°C. Ook zijn er T shirts en jassen met de verschillende behandelingen ongewassen gebleven. Dit geeft aan of het virus kan overleven op de kleding. Daarnaast zijn ter controle onbesmette T shirts en jassen meegewassen bij de vervuilde T shirts en jassen in alle wasprogramma's. Dit geeft aan of er overdracht van virus kan plaatsvinden van besmette naar onbesmette kledingstukken tijdens het verblijf in de wasmachine.

De resultaten van het onderzoek laten zien dat het wassen van de shirtjes en jassen onder alle omstandigheden effectief is geweest. Alleen op de ongewassen kleding kon het virus worden vastgesteld.

Conclusie is dan ook dat wassen op 40°C afdoende is om pepinomozaïekvirus te doden. De boodschap voor telers is dan ook om alle kledingstukken gedragen in een besmet gewas altijd te wassen op 40°C. Indien dit niet wordt gedaan, en de kleding blijft bijvoorbeeld op een haakje hangen, dan blijft er een risico op verspreiding van het virus via kleding.

4 Iqnlglkj

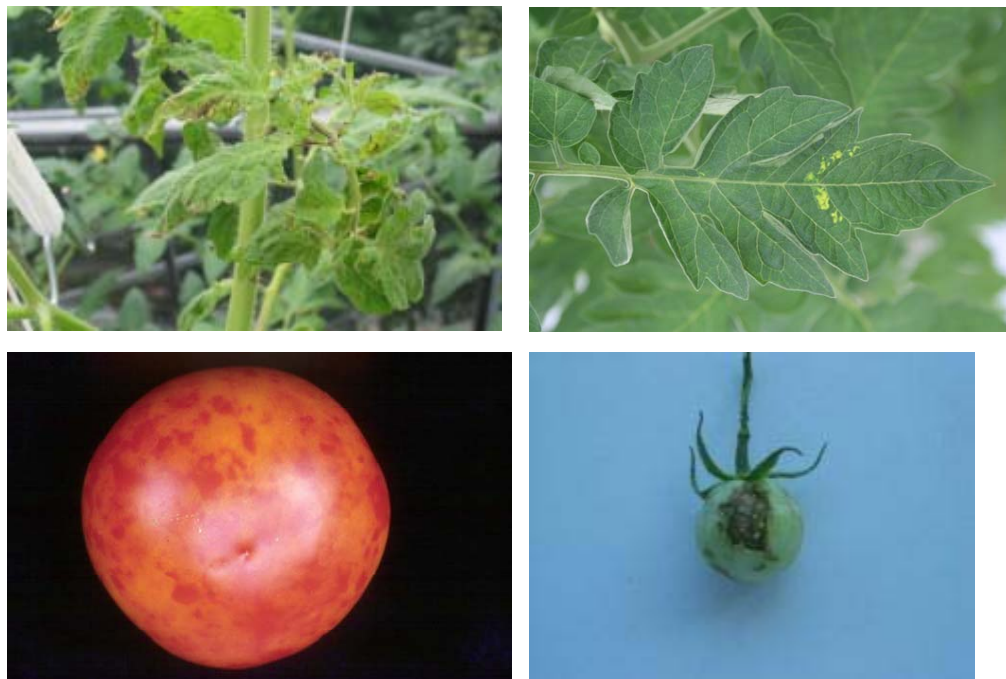
In de teelt van tomaat kunnen een aantal virussen voor problemen zorgen, waarbij pepinomozaïekvirus de belangrijkste is. Dit virus is via zaad en mechanisch overdraagbaar. Overdracht vindt plaats bij gewashandelingen als snoeien en oogsten. Ook via besmet materiaal zoals mesjes, scharen, kleding, sieraden en fust is verspreiding mogelijk. Door een gebrek aan bestrijdingsmaatregelen vormt dit virus een terugkerend probleem. Het virusprobleem kan daarom alleen voorkomen worden door het nemen van hygiënemaatregelen.

In 2010 is door Wageningen UR Glastuinbouw een kleinschalige proef uitgevoerd met kleding die gebruikt is in een komkommerteelt die door komkommerbontvirus (cucumber green mottle mosaic virus, CGMMV) besmet was. Op deze kleding kon twee maanden na afloop van de teelt (waarbij de kleding dus in opslag lag) nog infectieus virus worden aangetoond. Dit was ook het geval nadat de kleding op 40°C of op 60°C was gewassen. Bij 90°C was al het virus wel afgedood na een wasbeurt. Dat bij 60 graden wassen het virus nog steeds infectieus is, is een knelpunt voor het hergebruik van kleding.

Pepinomozaïekvirus behoort tot een geheel andere virusgroep dan komkommerbontvirus, dus is het zeer de vraag welke temperaturen bij het wassen nodig zijn om al het virus te doden.

4 14 Grhdydq#khw}rgghu}rhn#

Bepalen wat de minimale wastemperatuur is waarbij pepinomozaïekvirus (PepMV) effectief wordt afgedood, zodat er geen gevaar meer is voor verspreiding van het virus via kleding.



Figuur 1. Symptomen van pepinomozaïekvirus op blad en vrucht

5 Surhirs }hw#

De proeven zijn uitgevoerd met nieuwe witte katoenen T shirtjes en overjassen (bezoekersjassen) die over het algemeen éénmalig worden gedragen.

5.14 Surhi#

Besmetten

Voor de wastest zijn op drie verschillende manieren de T shirtjes "besmet" met pepinomozaïekvirus.

- Bij een tomatenteelt die geïnfecteerd is met PepMV, zijn kledingstukken verzameld die gedragen zijn tijdens de reguliere gewaswerkzaamheden.
- Nieuwe T shirts zijn besmet door ze in te wrijven met bladeren van besmette planten uit de zelfde tomatenteelt (in drievoud).
- Nieuwe T shirts besmet door ze te dompelen in een virussuspensie die gemaakt is door bladeren van besmette planten uit bovengenoemde teelt fijn te malen in een ELISA buffer.

Bij de besmettingswijze is sprake van een besmetting met hetzelfde virusisolaat. Voordat de proef is uitgevoerd is eerst vastgesteld dat er in het verzamelde blad het pepinomozaïekvirus werkelijk aanwezig was. Dit is met een ELISA test gecontroleerd. Zie tabel 1 voor een overzicht van de besmettingswijze, het aantal shirtjes en de wastemperatuur

Tabel 1 Besmettingswijze van de shirtjes met de aantallen en de verschillende wastemperaturen.

	Ongewassen	40°C	60°C	90°C
Shirts gedragen in de praktijk	3	3	3	3
Shirts besmet met bladeren	3	3	3	3
Shirts gedrenkt in virussuspensie	3	3	3	3
Onbesmette shirts (meewassen)	3	9		

Wassen

De kledingstukken zijn gewassen met een standaard witte wasprogramma onder toevoeging van wasmiddel voor de witte was. Daarbij is gewassen bij een gelijkblijvende tijdsduur bij verschillende temperaturen:

- 40°C
- 60°C
- 90°C

Daarnaast bleef één set kledingstukken met de verschillende behandelingen ongewassen. Dit geeft aan of het virus wel kan overleven op de kleding.

Daarnaast zijn ter controle onbesmette T shirts meegewassen bij de vervuilde T shirts in het wasprogramma van 40°C. Dit geeft aan of er overdracht van virus kan plaatsvinden van besmette naar onbesmette kledingstukken tijdens het verblijf in de wasmachine.

De besmette kleding is in plastic zakken gedaan en afgesloten.

De dag na het wassen zijn veegmonsters genomen van kledingstukken die vervolgens zijn uitgesmeerd op toetsplanten. Per behandeling zijn telkens vier toetsplanten geïnoculeerd. Het

besmette plantensap is ook op toetsplanten uitgesmeerd evenals het sap afkomstig van gezonde tomatenplanten (negatieve controle).

Besmetting van deze toetsplanten is bepaald door het ontstaan van symptomen te monitoren en door individuele planten met een ELISA test te toetsen op de aanwezigheid van pepinomozaïekvirus.

5.15 Surhi#5#

Door twijfel aan de resultaten uit proef 1 is er een nieuwe proef opgezet. Deze proef is vergelijkbaar van opzet en uitvoering met de eerste proef. In plaats van drie manieren van besmetten is er in deze proef op twee manieren besmet te weten:

- Nieuwe T shirts zijn besmet door ze in te wrijven met bladeren van met PepMV besmette planten (in drievoud).
- Nieuwe T shirts zijn gedompeld in een virussuspensie die gemaakt is door bladeren van met PepMV besmette planten fijn te malen in een ELISA buffer.

Ook hierbij is eerst het bladmateriaal getest op de aanwezigheid van PepMV. Na een positieve uitslag is het blad gebruikt. Zie tabel 2 voor een overzicht van de besmettingswijze, het aantal shirtjes en de wastemperatuur

Tabel 2 Besmettingswijze van de shirtjes met de aantallen en de verschillende wastemperaturen.

	Ongewassen	40°C	60°C	90°C
Shirts besmet met bladeren	3	3	3	3
Shirts gedrenkt in virussuspensie	3	3	3	3
Onbesmette shirts (meewassen)	3	3		

Het wassen en de toetsing op de aanwezigheid van het virus is op dezelfde wijze uitgevoerd als proef 1. Zie voor een beschrijving hierboven.

5.16 Surhi#6#

In de proeven 1 en 2 zijn alleen T shirts gebruikt. Op veel bedrijven krijgen de bezoekers overjassen of overalls die zij in de kas moeten dragen. Deze zijn van vrij dun materiaal en worden over het algemeen eenmalig gedragen. Bij veel telers leeft de vraag of het virus op dit materiaal kan overleven en of wassen afdoende is om te zorgen dat het virus niet meer infectieus is. In deze proef zijn een paar jassen meegenomen in zowel de veertig graden behandeling als onbehandeld.

In deze proef is er weer gekozen voor drie manieren van besmetten:

Met de kledingstukken door een besmet gewas lopen.

Door de kledingstukken in te wrijven met bladeren van besmette planten, waarbij vlekken ontstaan.

De kledingstukken dompelen in een virussuspensie.

Ook in deze proef is het gewas en het blad eerst getest op aanwezigheid van PepMV. Zie tabel 3 voor een overzicht van de besmettingswijze, kledingstukken en de wastemperaturen.

Tabel 3 Overzicht van de uitgevoerde behandelingen met shirts en jassen.

Behandeling		
Positieve controle	-	-
Negatieve controle	-	-
Besmet (dompelen)	Ongewassen	T-shirt
Besmet (vlekken)	Ongewassen	T-shirt
Besmet (gewaswerk)	Ongewassen	T-shirt
Besmet (gewaswerk)	Ongewassen	jas
Besmet (dompelen)	Gewassen op 40 graden	T-shirt
Besmet (vlekken)	Gewassen op 40 graden	T-shirt
Besmet (gewaswerk)	Gewassen op 40 graden	T-shirt
Besmet (vlekken)	Gewassen op 40 graden	jas
Besmet (gewaswerk)	Gewassen op 40 graden	jas
Onbesmet	meegewassen op 40 graden	T-shirt
Besmet (dompelen)	Gewassen op 60 graden	T-shirt
Besmet (vlekken)	Gewassen op 60 graden	T-shirt
Besmet (gewaswerk)	Gewassen op 60 graden	T-shirt
Besmet (dompelen)	Gewassen op 90 graden	T-shirt
Besmet (vlekken)	Gewassen op 90 graden	T-shirt
Besmet (gewaswerk)	Gewassen op 90 graden	T-shirt

Het wassen en de toetsing op de aanwezigheid van het virus is op dezelfde wijze uitgevoerd als in de proeven 1 en 2. Zie voor een beschrijving hierboven bij proef 1.

5.17 Surhi#7

Nadat in proef 3 naast de T shirts ook de (eenmalige) jassen zijn meegenomen is besloten deze proef te herhalen en de jassen ook mee te nemen in de zestig en negentig graden behandelingen.

In deze proef is gekozen voor twee manieren van besmetten:

Met de kledingstukken door een besmet gewas lopen.

De kledingstukken dompelen in een virussuspensie.

In deze proef is ter controle bij alle wastemperaturen onbesmette kleding meegewassen. In eerdere proeven is dit alleen bij het wasprogramma van 40°C gedaan.

Ook in deze proef is het gewas en het blad eerst getest op aanwezigheid van PepMV. Zie tabel 4 voor een overzicht van de besmettingswijze, kledingstukken en de wastemperaturen.

Het wassen en de toetsing op de aanwezigheid van pepinomozaïekvirus is op dezelfde wijze uitgevoerd als in de voorgaande proeven. Zie voor een beschrijving hierboven bij proef 1.

Tabel 4. *Overzicht van de uitgevoerde behandelingen met shirts en jassen.*

Positieve controle	-	-
Negatieve controle	-	-
Besmet (dompelen)	Ongew assen	T-shirt
Besmet (dompelen)	Ongew assen	jas
Besmet (gew asw erk)	Ongew assen	T-shirt
Besmet (gew asw erk)	Ongew assen	jas
Besmet (dompelen)	Gew assen op 40 graden	T-shirt
Besmet (gew asw erk)	Gew assen op 40 graden	T-shirt
Besmet (dompelen)	Gew assen op 40 graden	jas
Besmet (gew asw erk)	Gew assen op 40 graden	jas
Onbesmet	meegew assen op 40 graden	T-shirt
Onbesmet	meegew assen op 40 graden	jas
Besmet (dompelen)	Gew assen op 60 graden	T-shirt
Besmet (gew asw erk)	Gew assen op 60 graden	T-shirt
Besmet (dompelen)	Gew assen op 60 graden	jas
Besmet (gew asw erk)	Gew assen op 60 graden	jas
Onbesmet	meegew assen op 60 graden	T-shirt
Onbesmet	meegew assen op 60 graden	jas
Besmet (dompelen)	Gew assen op 90 graden	T-shirt
Besmet (gew asw erk)	Gew assen op 90 graden	T-shirt
Besmet (dompelen)	Gew assen op 90 graden	jas
Besmet (gew asw erk)	Gew assen op 90 graden	jas
Onbesmet	meegew assen op 90 graden	T-shirt
Onbesmet	meegew assen op 90 graden	jas

6 Uhxodwhq#

In de eerste proef leverde de toetsing van het gewassen materiaal op toetsplanten geen symptomen op, ook niet bij natoetsen met een ELISA test. Alleen het gebruikte plantensap liet symptomen zien op de toetsplanten (Fig. 2).

Na het zien van de resultaten uit de eerste proef is besloten de proef te herhalen. Ook in deze proef kon het virus alleen worden aangetoond in het besmette plantensap en op de shirtjes die wel besmet waren maar niet gewassen.

In de derde proef zijn naast de T shirts ook gastjassen meegenomen. Het virus kon worden aangetoond in het besmette plantensap dat op de kleding is gedaan. Daarnaast kon het virus worden aangetoond op de besmette T shirts en jassen die niet waren gewassen. Op alle gewassen T shirts en jassen bij de verschillende temperaturen kon het virus niet meer worden aangetoond.

Ook in de laatste proef blijkt het wassen van de shirtjes en jassen onder alle omstandigheden effectief te zijn geweest. Op geen van de toetsplanten is nog virus vastgesteld. Alleen op de ongewassen kleding kon het virus in een toets worden vastgesteld.



Figuur 2. Symptomen van pepinomozaïekvirus op toetsplant.

7 G l v f x v l h # h q # f r q f o x v l h

In 2000 is in onderzoek vastgesteld dat pepinomozaïekvirus gedurende 14 dagen infectieus kan blijven op kleding. Dit betekent dat er met kleding gedragen in een besmet gewas een risico is op verspreiding van besmette naar gezonde planten. Om dit te voorkomen moet de kleding altijd schoon zijn. Vraag hierbij is op welke temperatuur er gewassen moet worden om zeker te zijn dat er geen infectieus virus meer aanwezig is. In onderzoek bij komkommerbontvirus is vastgesteld dat pas bij wassen op 90°C het virus volledig werd afgedood. PepMV behoort tot een andere virusgroep dan komkommerbontvirus, dus was het zeer de vraag welke temperatuur hierbij nodig is om al het virus af te doden. PepMV besmette kleding is op drie temperaturen gewassen te weten: 40°C, 60°C en 90°C. In de eerste proef kon alleen het virus worden aangetoond op het besmette plantensap dat als inoculum voor de kleding was gebruikt. Het virus kon ook niet worden aangetoond op besmette shirtjes die 24 uur waren bewaard. Dit klopte niet met de waarnemingen uit het onderzoek dat in 2000 was uitgevoerd. Nagegaan is waar dit aan zou kunnen liggen. De besmette shirtjes zijn in plastic zakken gedaan en de volgende dag geopend bij de wasmachine. Hierbij viel op dat er een rottingslucht uitkwam. De shirtjes die niet gewassen hoefden te worden zijn weer in de zak gedaan en de volgende dag getoetst op aanwezigheid van virus. De was is bij de eerste proef buiten gedroogd en mogelijk heeft UV ook een positief effect gehad op de doding van het virus. Omdat dit resultaat niet werd verwacht is de proef herhaald en is er voor gekozen de was binnen te drogen. Maar ook in deze proef kon alleen het virus in het besmette plantensap worden aangetoond. Dit geeft wel aan dat het virus nog infectieus was toen het op de shirtjes werd aangebracht.

Daarom is de proef nogmaals uitgevoerd en naast de T shirtjes zijn er ook gast jassen meegenomen. In deze proef kon het virus op zowel plantensap als op de besmette, maar niet gewassen, kledingstukken worden aangetoond. Bij de gewassen kledingstukken, ongeacht de temperatuur, kon geen virus meer worden aangetoond. Deze resultaten zijn ook behaald in de vierde en laatste proef.

Conclusie is dan ook dat wassen op 40°C afdoende is om pepinomozaïekvirus te doden. De boodschap voor telers is dan ook om alle kledingstukken gedragen in een besmet gewas altijd te wassen op 40°C. Indien dit niet wordt gedaan, en de kleding blijft bijvoorbeeld op een haakje hangen, dan blijft er een risico op verspreiding van het virus via kleding.

#

#

