



WAGENINGEN UR
For quality of life

Overleving van komkommerbontvirus (CGMMV) in verschillende milieus

Ineke Stijger, Roel Hamelink

Wageningen UR Glastuinbouw, Wageningen/Bleiswijk
november 2012

Rapport/Nota nummer



Wageningen UR Glastuinbouw

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

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1 Inleiding	4
1.1 Doel van het onderzoek	4
2 Materiaal en Methoden	6
2.1 Onderdeel A: duur infectiositeit in organisch, op niet-organisch materiaal en in grond	6
2.1.1 A 1: Organisch materiaal	6
2.1.2 A 2. Niet-organisch materiaal	6
2.1.3 A 3. Grond	8
2.1.4 Toetsingen onderdelen A 1, 2 en 3	8
2.2 Onderdeel B: Vaststellen effectiviteit van ontsmettingsmiddelen	8
2.3 Onderdeel C: literatuurstudie signaalstof	9
3 Resultaten	11
3.1 Onderdeel A	11
3.1.1 Organisch materiaal	11
3.1.2 Niet organisch materiaal	11
3.1.3 Grond	11
3.2 Onderdeel B: Vaststellen effectiviteit van ontsmettingsmiddelen	13
3.3 Onderdeel C: literatuurstudie signaalstof	13
4 Discussie en conclusie	15
Bijlage I. Resultaten Menno Clean op glas, metaal en beton	1

Samenvatting

Komkommerbontvirus is een virus dat via mechanische overdracht en zaad kan worden verspreid. Via sap van geïnfecteerde planten kan bij alle gewashandelingen zoals indraaien, snoeien en oogsten het virus worden overgedragen op gezonde planten. Verspreiding van het virus is mogelijk via besmet materiaal zoals mesjes, scharen, kleding en fust. Het virus kan overblijven in gewasresten zoals bladeren, wortels en vruchten. Grote vraag is of er ook andere bronnen voor een nieuwe infectie met komkommerbontvirus zijn?

In dit onderzoek diende antwoorden gevonden te worden op de volgende vragen:

1. Kan het virus overleven op niet organische oppervlakten van verschillende materialen in en rond de kas zoals glas, aluminium, beton en kunststof?
2. Kan het virus overleven in organisch materialen in en rond de kas zoals grond, blad, wortels en vruchten?
3. Spelen temperatuur en bewaring een rol bij overleving van komkommerbontvirus?
4. Welke maatregelen kunnen worden genomen om de overlevingsduur te verkorten?

Doel van dit onderzoek is om een antwoord te geven op de bovenstaande vragen. Het project is onderverdeeld in een drietal onderwerpen, te weten:

1. Onderdeel A: Duur infectiositeit in organisch, op niet-organisch materiaal en in grond
2. Onderdeel B: Vaststellen effectiviteit van ontsmettingsmiddelen
3. Onderdeel C: literatuurstudie signaalstof

Resultaten

Onderdeel A

Organisch materiaal

- Het virus blijft het langst infectieus in organisch materiaal en wel tot 316 dagen na inzet. Dit zijn met name de vruchten die bewaard zijn bij 20°C en 30°C. Hier was na zo'n lange bewaartijd niet veel meer van over maar nog wel voldoende om het virus in aan te kunnen tonen. Al het organisch materiaal bij 10°C bewaard is na 255 dagen voor een maand bij 40°C gezet. Daarna kon er geen infectieus virus meer worden aangetoond.

Niet-organisch materiaal

- Tot en met 35 dagen na inzet van de proef wordt op de meeste materialen nog infectieus virus vastgesteld behalve bij beton. De resultaten van dit materiaal kunnen echter wisselend zijn omdat het opgebrachte besmette plantensap en de middelen gemakkelijk in het materiaal kunnen trekken. Bij het terugtoetsen is het dan ook lastig om het plantensap er weer uit te halen.
- Bij langere bewaring is er een verschil waar te nemen bij welke temperatuur de materialen worden bewaard.
- Op glas, bewaard bij 20°C, kan nog infectieus virus worden vastgesteld 316 dagen na inzet
- Bij een bewaring bij 30°C wordt alleen nog op metaal na 189 dagen het virus vastgesteld
- Op materiaal dat tot 255 dagen na inzet proef bij 10°C heeft gestaan en vervolgens een maand bij 40°C is geen infectieus virus meer waargenomen.

Grond

- In de grond die bij 20°C is bewaard kon tot 35 dagen na bewaring het virus worden aangetoond. Opvallend was dat in de bemonsteringen daarna geen virus is vastgesteld tot de bemonstering bij 255 dagen na inzet. Hierbij kon er wel virus worden aangetoond. Dit geeft aan dat het virus lang aanwezig kan zijn maar dat het ook afhangt van welk monster je neemt.

Onderdeel B

Ontsmettingsmiddelen

- De werking van de middelen bij 10°C blijkt heel erg tegen te vallen.
- Zelfs een langere inwerktijd is niet altijd beter.
- Toepassing bij hoge of bij lage relatieve vochtigheid liet geen verschillen zien, net zo min als toepassing in het licht of het donker.
- Er was een heel klein (positief) effect op de wat gladdere materialen waar te nemen.
- Van de drie middelen kwam Virkon er het beste uit maar onvoldoende voor een goede ontsmetting.

Onderdeel C

Een geschikte kant en klare signaalstof of kleurindicator om aan te tonen of er nog virus aanwezig is op oppervlakken zijn we in de literatuur niet tegen gekomen. Om 'rest' virus na de grote schoonmaak aan te kunnen tonen zou er iets ontwikkeld moeten worden waarbij in het product antilichamen van dat virus zitten en een label

(kleur) die dan bestaat uit een fluorescerende stof. Dit idee is besproken met een leverancier van antiserum (waarin antilichamen zitten). Antiserum wordt gebruikt in een ELISA test waarmee veel plantenvirussen kunnen worden aangetoond.

De leverancier gaf aan een haalbaarheidsstudie te kunnen uitvoeren voor het idee van een signaalstof. Hierbij wordt gedacht aan een bedrag van rond de € 20.000,-. Wat dan uiteindelijk de verkoopprijs moet gaan worden is niet aan te geven.

Een test die op dit moment wel gelijk bruikbaar is, is een zogenaamde lateral flow test en ook wel sneltest genoemd. Dit zijn eenvoudige, snelle doe het zelf testen voor gebruik in de kas.

Komkommerbontvirus kan lang infectieus (levend) blijven in organisch materiaal. Dit geeft aan dat bij een teeltwisseling grondig geruimd moet worden.

Doordat het virus lang infectieus kan blijven op diverse materialen zullen deze zeer goed schoongemaakt moeten worden en afgespoten met een ontsmettingsmiddel. Probleem kan dan wel zijn als je ontsmettingsmiddelen bij een lage temperatuur toepast de werking dan minder is. Zorg dan ook dat de temperatuur liefst boven 20°C is.

1 Inleiding

Komkommerbontvirus is een virus dat via mechanische overdracht en zaad kan worden verspreid. Via sap van geïnfecteerde planten kan bij alle gewashandelingen zoals indraaien, snoeien en oogsten het virus worden overgedragen op gezonde planten. Verspreiding van het virus is mogelijk via besmet materiaal zoals mesjes, scharen, kleding en fust. Het virus kan overblijven in gewasresten zoals bladeren, wortels en vruchten. Grote vraag is of er ook andere bronnen voor een nieuwe infectie met komkommerbontvirus zijn?

In dit onderzoek diende antwoorden gevonden te worden op de volgende vragen:

1. Kan het virus overleven op niet organische oppervlakten van verschillende materialen in en rond de kas zoals glas, aluminium, beton en kunststof?
2. Kan het virus overleven in organisch materialen in en rond de kas zoals grond, blad, wortels en vruchten?
3. Spelen temperatuur en bewaring een rol bij overleving van komkommerbontvirus?
4. Welke maatregelen kunnen worden genomen om de overlevingsduur te verkorten?

Voor al deze vragen was het van groot belang om het onderzoek te richten op vitale en infectieuze virusdeeltjes. Daarom zijn de toetsingen uitgevoerd op planten (biotoets).

1.1 Doel van het onderzoek

Doel van het onderzoek is om een antwoord te geven op de in de inleiding geformuleerde vragen met als primair doel om praktische kennis voor de telers te vergaren die direct toepasbaar is en antwoord geeft op de in de praktijk levende vragen.

Dit project bestaat uit een aantal deelprojecten die onderling samenhangen en op elkaar zijn afgestemd.

2 Materiaal en Methoden

2.1 Onderdeel A: duur infectiositeit in organisch, op niet-organisch materiaal en in grond

Bij dit onderdeel is bepaald hoe lang het virus infectieus blijft in organisch en op niet-organisch materiaal en in grond. Hiervoor zijn komkommerplanten mechanisch geïnoculeerd met komkommerbontvirus. Ongeveer 14 dagen na inoculatie zijn deze planten met een ELISA test gecontroleerd of de infectie succesvol was. De positief geteste planten zijn aangehouden totdat daar voldoende grote vruchten aan zaten. Van deze geïnfecteerde planten zijn de bladeren, vruchten en wortels geoogst. Een deel van het materiaal is fijngemalen en diende als uitgangsmateriaal voor toetsing van de overleving van komkommerbontvirus op oppervlakken. Het overgebleven organisch materiaal is in porties verdeeld.

Toetsing van de duur van infectiositeit is op drie verschillende manieren uitgevoerd:

- A 1. Toetsing ziek blad-, vrucht- en wortelmateriaal op de aanwezigheid van komkommerbontvirus
- A 2. Toetsing ingedroogd ziek bladsap op een oppervlak op de aanwezigheid van komkommerbontvirus
- A 3. Toetsing van grond op de aanwezigheid van komkommerbontvirus

2.1.1 A 1: Organisch materiaal

De geïnfecteerde bladeren, vruchten en wortels zijn bewaard bij 10°C, 20°C of 30°C. Voor deze temperaturen is gekozen om na te gaan of er grote verschillen zitten in de bewaring bij lage of juist hoge temperaturen. De temperaturen zijn daarom als volgt gekozen;

- **10°C**
Teeltwisseling: Gedurende een normale teeltwisseling (november/december) zal de temperatuur in de kas over het algemeen aan de lage kant zijn omdat er niet wordt gestookt.
Tijdens de teelt: overleving van komkommerbontvirus in koelcellen.
- **20°C**
Teeltwisseling: Overleving van komkommerbontvirus in organisch materiaal in de bedrijfsruimte, op kantoor, kantine, toiletten en wasruimte. Daarnaast kan een verhoging van de temperatuur in de kas (doorstoken na het einde van de teelt) tijdens de teeltwisseling mogelijk van invloed zijn op de overleving van de virusdeeltjes in organisch materiaal.
Tijdens de teelt: Het is van belang te weten hoe secuur er moet worden omgegaan met bijvoorbeeld geplukt blad.
- **30°C**
Tijdens de teelt: in de zomermaanden kan de temperatuur oplopen. Als er dan nog organisch materiaal in de kas aanwezig is, is het van belang te weten of het virus dan kort of juist lang infectieus blijft.

Het bewaarde organisch materiaal is met enige regelmaat getoetst. Om zeker te zijn dat er nog infectieus (levend) virus aanwezig is, is een biotoets uitgevoerd. Dit betekent dat er getoetst is op planten.

2.1.2 A 2. Niet-organisch materiaal

Het geïnfecteerde bladsap is op verschillende oppervlakken (metaal, glas, beton, kunststof ruw en kunststof glad) uitgesmeerd en dit materiaal is weggezet bij 10°C, 20°C of 30°C. Er is voor deze drie temperaturen gekozen om gedurende verschillende fases in de teelt aan te kunnen geven over het effect op de overleving van komkommerbontvirus.

Enkele voorbeelden van verschillende temperaturen zijn:

- **10°C**
Teeltwisseling: Overleving van komkommerbontvirus op materialen zoals, goten en opstanden tijdens de teeltwisseling
Tijdens de teelt: overleving van het komkommerbontvirus op het fust of de wanden in een koelcel.

- **20°C**

Teeltwisseling: Overleving van komkommerbontvirus op oppervlakken in kantoor, kantine, toiletten, was- en bedrijfsruimte. Maar geeft ook inzicht in de overleving van komkommerbontvirus bij doorverwarmen van de kas tijdens de teeltwisseling

Tijdens de teelt: Overleving van komkommerbontvirus op bijvoorbeeld transportkarren, fust en andere oppervlakken.

- **30°C**

Tijdens de teelt: Overleving van komkommerbontvirus op bijvoorbeeld transportkarren en fust gedurende de zomermaanden.

Regelmatig is gecontroleerd of er nog virus aanwezig was op het materiaal. Om zeker te zijn dat er nog infectieus (levend) virus aanwezig was, is een biotoets (Figuur 1) uitgevoerd. Dit betekent dat er getoetst is op planten.

Naast bovenstaande niet-organische materialen bleek er in de BCO commissie ook nog belangstelling te zijn om hout in het onderzoek te betrekken. Dit is als extra meegenomen terwijl er geen financiering tegenover stond. In de proeven is gewerkt met hout glad en hout ruw. Ook dit materiaal is bij dezelfde temperaturen weggezet als hierboven beschreven.



Figuur 1. Overzicht van een biotoets.

Naar aanleiding van vragen uit de BCO over het gebruik van magere melk om verspreiding van het virus van plant naar plant te voorkomen is een extra proef ingezet. Deze methode werd in Nederland voor het eerst op grote schaal toegepast in de paprikateelt tegen paprikamozaïekvirus. De werking is niet exact bekend maar waarschijnlijk hechten eiwitten uit de melk zich aan het virus en dringen met het virus de plant binnen. Mogelijk kan het virus zich daardoor niet of nauwelijks verspreiden in de plant.

In de proef zijn komkommerplanten ingesmeerd met virushoudend sap in verschillende concentraties en al dan niet vermengd met magere melk. Hiervoor is verse kant en klare onverdunde magere melk gebruikt met een 3.7% melkeiwit (vermeld op pak).

2.1.3 A 3. Grond

Voor dit onderdeel zijn wortels verzameld van komkommerplanten uit de praktijk waarbij is vastgesteld dat er komkommerbontvirus aanwezig is. Dit geïnfecteerde materiaal is gemengd met gestoomde kasgrond en vervolgens bij 20°C bewaard. Uit deze grond plus zieke wortels is een monster gehaald en getoetst op planten om de aanwezigheid van infectieus virus vast te kunnen stellen. Ook zijn gezonde komkommerplanten in het grondmengsel geplant om na te gaan of deze planten geïnfecteerd kunnen worden met komkommerbontvirus. Dit is gedaan nadat de grond een maand is bewaard en is vastgesteld dat er nog infectieus virus in het materiaal aanwezig is.

2.1.4 Toetsingen onderdelen A 1, 2 en 3

Het bewaarde materiaal is na inzet van de proef gedurende de eerste twee weken 2 maal per week getoetst. Na twee weken is het materiaal 1 maal per week getoetst. Na 6 weken is de toetsfrequentie op 1 maal per maand komen te liggen. In het projectvoorstel is aangegeven door te gaan met toetsen zolang er infectieus virus wordt aangetoond met een maximum van een half jaar. Na dit half jaar werd er nog steeds infectieus virus in organisch en op niet-organisch materiaal gevonden en heeft de BCO komkommer besloten nog 2 maal te toetsen. Ook is één maand voor de laatste toets al het materiaal dat tot dan toe bij 10°C was bewaard bij 40°C geplaatst. Dit op verzoek van de BCO komkommer.

2.2 Onderdeel B: Vaststellen effectiviteit van ontsmettingsmiddelen

In dit onderdeel is de effectiviteit van drie in de praktijk veel toegepaste ontsmettingsmiddelen onderzocht. Hierbij is gebruik gemaakt van dezelfde materialen zoals beschreven in onderdeel A 2.

De diverse materialen die met ziek plantsap zijn besmet zijn behandeld met middel A (MennoClean), B (Jet 5) en C (Virkon). Alle middelen zijn toegepast met de geadviseerde concentratie en een dubbele dosering. Na korte, middellange en lange inwerktijden (5, 60 en 240 minuten) is gecontroleerd of er nog infectieus virus op het materiaal aanwezig was. Daarnaast is er gekeken naar omstandigheden waaronder de ontsmetting plaats vindt. Daarom is er onderzocht of er meer of minder effectiviteit is als de middelen worden toegepast onder de volgende omstandigheden:

- Daglicht (UV-straling) en donker
- 10°C (deze temperatuur is gekozen na de uitkomsten uit fase A)
- Hoge en lage relatieve luchtvochtigheid

In tabel 1 staat een overzicht van de te toetsen middelen en de verschillende omstandigheden waaronder ze worden toegepast.

Infectiositeit van de virusdeeltjes is vastgesteld door middel van een biotoets.

Alcohol, Chloor en Formaline zijn niet in dit onderzoek opgenomen omdat uit onderzoek uit het verleden is gebleken dat deze middelen een goede ontsmettende werking hebben tegen bacteriën en schimmels, maar onvoldoende virusdodende werking hebben.

Tabel 1. Overzicht van de verschillende ontsmettingsmiddelen, behandelingen en op welke materialen ze zijn toegepast.

middel	MennoClean, Jet-5, Virkon							
	1%				2%			
concentratie	1%		1%		2%		2%	
licht/donker	dag		nacht		dag		dag	
temperatuur	10°C		10°C		10°C		10°C	
luchtvochtigheid	hoge RV	lage RV	hoge RV	lage RV	hoge RV	lage RV	hoge RV	lage RV
inwerktijd (min)	5,60, 240	5, 60, 240	5,60, 240	5,60, 240	5,60, 240	5, 60, 240	5,60, 240	5, 60, 240
materialen	glas	glas	glas	glas	glas	glas	glas	glas
	metaal	metaal	metaal	metaal	metaal	metaal	metaal	metaal
	beton	beton	beton	beton	beton	beton	beton	beton
	kunststof ruw	kunststof ruw	kunststof ruw	kunststof ruw	kunststof ruw	kunststof ruw	kunststof ruw	kunststof ruw
	kunststof glad	kunststof glad	kunststof glad	kunststof glad	kunststof glad	kunststof glad	kunststof glad	kunststof glad

2.3 Onderdeel C: literatuurstudie signaalstof

Een signaalstof of kleurindicator om aan te tonen of virus aanwezig is op het oppervlakten, zou telers enorm kunnen helpen. Dit is vooral van belang gedurende de teeltwisseling. De signaalstof kan helpen om de schoonmaak van een kas zodanig uit te voeren dat er naderhand gecontroleerd kan worden dat er geen virus meer aanwezig is na de grote schoonmaak.

In de literatuur is nagegaan of een dergelijke stof bestaat. Daarnaast is nagegaan of het mogelijk is om een dergelijk stof te ontwikkelen.

3 Resultaten

3.1 Onderdeel A

3.1.1 Organisch materiaal

Alle toetsingen zijn uitgevoerd op planten. Deze geïnoculeerde planten zijn steeds na 2 weken gecontroleerd met een ELISA test op aanwezigheid van virus. Hierbij zijn zowel planten met als zonder symptomen getoetst. De resultaten van deze ELISA toetsingen staan vermeld in tabel 2. Tot 49 dagen na inzet wordt in al het organisch materiaal nog infectieus virus aangetoond ongeacht de temperatuur waarbij het is weggezet. De proef is beëindigd met een laatste toets op 316 dagen na inzet. Daarbij blijkt het virus nog steeds aan te tonen in de vruchten die bij 20°C en 30°C zijn bewaard.

Al het organisch materiaal wat gedurende 255 dagen bij 10°C was bewaard en nog steeds positief op virus werd getest, bleek na een periode van 1 maand bij 40°C niet meer infectieus te zijn.

3.1.2 Niet organisch materiaal

Net als bij het organisch materiaal zijn de toetsingen van het ingedroogde plantensap op diverse materialen uitgevoerd op toetsplanten. Twee weken na inoculatie zijn deze planten, zonder of met symptomen, gecontroleerd op aanwezigheid van virus met een ELISA test. De resultaten van deze test staan vermeld in tabel 2. Tot en met 35 dagen na inzet van de proef wordt op de meeste materialen nog infectieus virus vastgesteld behalve bij beton. De resultaten van dit materiaal kunnen echter wisselend zijn omdat het opgebrachte besmette plantensap en de middelen gemakkelijk in het materiaal kunnen trekken. Bij het terugtoetsen is het dan ook lastig om het plantensap er weer uit te halen.

De materialen plastic ruw en plastic glad die gedurende 255 dagen bij 10°C werden bewaard en tot dan toe ook steeds positief werden getest, zijn gedurende een maand bij 40°C geplaatst. Uit tabel 2 blijkt dat er na deze maand geen virus meer kon worden vastgesteld.

In tabel 3 staan de resultaten van de extra proef die is uitgevoerd met besmet plantensap op hout. Hieruit blijkt dat het virus op hout wat bij 30°C is bewaard niet lang infectieus blijft.

In de proef met magere melk werden alleen symptomen op de planten (Figuur 2) waargenomen bij het onverdunde virushoudende sap. Ook bij na toetsen met een ELISA test werd een positieve reactie waargenomen bij deze planten. Bij gelijke delen melk en virushoudend sap werden geen symptomen op de planten waargenomen en ook de ELISA test was negatief. In alle verdunde concentraties had melk kennelijk een goede werking tegen het virus.

3.1.3 Grond

Grond is volgens hetzelfde schema getoetst als het organische en niet-organisch materiaal. Uit tabel 2 blijkt dat 35 dagen na inzet van de proef nog infectieus virus in de grond kan worden aangetoond. Daarna wordt er bij het toetsen geen virus meer aangetoond tot 255 dagen na inzet van de proef. Dan blijkt na toetsing toch weer een monster infectieus virus te bevatten.

De gezonde jonge planten die in de besmette grond zijn geplant gaven geen symptomen en het komkommerbontvirus kon hierin niet worden aangetoond.

Tabel 2. Resultaten van de ELISA testen uitgevoerd op organisch, niet-organisch materiaal en grond wat bewaard is bij verschillende temperaturen.

temp (°C)	materiaal	dagnummer															
		3	7	10	14	24	28	35	42	49	77	105	133	162	189	255	316
10	blad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
10	vrucht	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
10	wortel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
10	metaal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
10	glas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
10	beton	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	
10	plastic ruw	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	
10	plastic glad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
20	blad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
20	vrucht	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
20	wortel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
20	metaal	+	+	+	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
20	glas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	
20	beton	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
20	plastic ruw	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	
20	plastic glad	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	
20	grond	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	
30	blad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
30	vrucht	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
30	wortel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
30	metaal	+	+	+	+	+/-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	
30	glas	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	
30	beton	-	+/-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
30	plastic ruw	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	
30	plastic glad	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
40	blad															-	
40	vrucht															-	
40	wortel															-	
40	metaal															-	
40	glas															-	
40	beton															-	
40	plastic ruw															-	
40	plastic glad															-	

Tabel 3. Resultaten van de ELISA testen uitgevoerd op hout, ruw en glad, wat bewaard is bij verschillende temperaturen.

temp (°C)	materiaal	dagnummer							
		2	13	23	41	70	98	125	191
10	hout ruw	+	+	-	-	-	+	-	-
10	hout glad	+	+	+	-	-	+	-	-
20	hout ruw	+	+	-	±	±	-	-	-
20	hout glad	+	+	-	-	-	-	-	-
30	hout ruw	+	-	-	-	-	-	-	-
30	hout glad	+	-	-	-	-	-	-	-



Figuur 2. Symptomen van komkommerbontvirus op een jonge komkommerplant.

3.2 Onderdeel B: Vaststellen effectiviteit van ontsmettingsmiddelen

De resultaten van de proeven met de ontsmettingsmiddelen staan vermeld in Bijlage 1. De effectiviteit van de onderzochte middelen bleek bij de toegepaste temperatuur van 10°C zeer teleurstellend. Al zijn er wel wat verschillen tussen de middelen. Toepassing bij hoge of bij lage relatieve vochtigheid liet geen noemenswaardige verschillen zien net zo min als bij toepassing in het donker of het licht.

3.3 Onderdeel C: literatuurstudie signaalstof

Een geschikte kant en klare signaalstof of kleurindicator om aan te tonen of er nog virus aanwezig is op oppervlakken zijn we in de literatuur niet tegen gekomen. Om 'rest' virus na de grote schoonmaak aan te kunnen tonen zou er iets ontwikkeld moeten worden waarbij in het product antilichamen van dat virus zitten en een label (kleur) die dan bestaat uit een fluorescerende stof. Dit idee is besproken met een leverancier van antiserum (waarin antilichamen zitten). Antiserum wordt gebruikt in een ELISA test waarmee veel plantenvirussen kunnen worden aangetoond.

De leverancier gaf aan een haalbaarheidsstudie te kunnen uitvoeren voor het idee van een signaalstof. Hierbij wordt gedacht aan een bedrag van rond de € 20.000,-. Wat dan uiteindelijk de verkoopprijs moet gaan worden is niet aan te geven.

Een test die op dit moment wel gelijk bruikbaar is, is een zogenaamde lateral flow test en ook wel sneltest genoemd. Dit zijn eenvoudige, snelle doe het zelf testen voor gebruik in de kas. Deze testen werken op basis van hetzelfde principe als een laboratorium test. De testen zijn al wat langer op de markt en bruikbaar voor verschillende plantenvirussen en daarnaast voor een aantal plantpathogene (ziekteverwekkende) schimmels en bacteriën. Voor komkommerbontvirus is er ook een dergelijke test beschikbaar.

In de praktijk is het toe te passen door een wattenprop vochtig te maken en dit over het oppervlak te halen waarvan je wilt weten of hier nog virus is achtergebleven na de grote schoonmaak. De prop watten moet daarna worden uitgeknepen en dit kan dan worden aangebracht op de sneltest (Figuur 3). Na ongeveer twee minuten kan het resultaat worden afgelezen.



Figuur 3. Voorbeeld van een sneltest waarbij de linker test een positief resultaat laat zien en de rechter een negatief resultaat.

4 Discussie en conclusie

Materialen

- Tot en met 35 dagen na inzet van de proef wordt op de meeste materialen nog infectieus virus vastgesteld behalve bij beton. De resultaten van dit materiaal kunnen echter wisselend zijn omdat het opgebrachte besmette plantensap en de middelen gemakkelijk in het materiaal kunnen trekken. Bij het terugtoetsen is het dan ook lastig om het plantensap er weer uit te halen.
- Bij langere bewaring is er een verschil waar te nemen bij welke temperatuur de materialen worden bewaard.
- Op glas, bewaard bij 20°C, kan nog infectieus virus worden vastgesteld 316 dagen na inzet
- Bij een bewaring bij 30°C wordt alleen nog op metaal na 189 dagen het virus vastgesteld
- Op materiaal dat tot 255 dagen na inzet proef bij 10°C heeft gestaan en vervolgens een maand bij 40°C is geen infectieus virus meer waargenomen.

Organisch materiaal

- Het virus blijft het langst infectieus in organisch materiaal en wel tot 316 dagen na inzet. Dit zijn met name de vruchten die bewaard zijn bij 20°C en 30°C. Hier was na zo'n lange bewaartijd niet veel meer van over maar nog wel voldoende om het virus in aan te kunnen tonen. Al het organisch materiaal bij 10°C bewaard is na 255 dagen voor een maand bij 40°C gezet. Daarna kon er geen infectieus virus meer worden aangetoond.

Grond

- In de grond die bij 20°C is bewaard kon tot 35 dagen na bewaring het virus worden aangetoond. Opvallend was dat in de bemonsteringen daarna geen virus is vastgesteld tot de bemonstering bij 255 dagen na inzet. Hierbij kon er wel virus worden aangetoond. Dit geeft aan dat het virus lang aanwezig kan zijn maar dat het ook afhangt van welk monster je neemt.

Ontsmettingsmiddelen

- De werking van de middelen bij 10°C blijkt heel erg tegen te vallen.
- Zelfs een langere inwerktijd is niet altijd beter.
- Toepassing bij hoge of bij lage relatieve vochtigheid liet geen verschillen zien, net zo min als toepassing in het licht of het donker.
- Er was een heel klein (positief) effect op de wat gladdere materialen waar te nemen.
- Van de drie middelen kwam Virkon er het beste uit maar onvoldoende voor een goede ontsmetting.

Komkommerbontvirus kan lang infectieus (levend) blijven in organisch materiaal. Dit geeft aan dat bij een teeltwisseling grondig geruimd moet worden.

Doordat het virus lang infectieus kan blijven op diverse materialen zullen deze zeer goed schoongemaakt moeten worden en afgespoten met een ontsmettingsmiddel. Probleem kan dan wel zijn als je ontsmettingsmiddelen bij een lage temperatuur toepast de werking dan minder is. Zorg dan ook dat de temperatuur liefst boven 20°C is.

Bijlage I.

Resultaten Menno Clean op glas, metaal en beton

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	glas	5	+
1	dag	-	glas	60	+
1	dag	-	glas	240	+
1	dag	+	glas	5	+
1	dag	+	glas	60	+
1	dag	+	glas	240	+
1	nacht	-	glas	5	+
1	nacht	-	glas	60	+
1	nacht	+	glas	240	+
1	nacht	+	glas	5	+
1	nacht	+	glas	60	+
1	nacht	+	glas	240	+
2	dag	-	glas	5	+
2	dag	-	glas	60	+
2	dag	-	glas	240	+
2	dag	+	glas	5	+
2	dag	+	glas	60	+
2	dag	+	glas	240	+
2	nacht	-	glas	5	+
2	nacht	-	glas	60	+
2	nacht	-	glas	240	+
2	nacht	+	glas	5	+
2	nacht	+	glas	60	+
2	nacht	+	glas	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	beton	5	+
1	dag	-	beton	60	+
1	dag	-	beton	240	+
1	dag	+	beton	5	+
1	dag	+	beton	60	+
1	dag	+	beton	240	+
1	nacht	-	beton	5	+
1	nacht	-	beton	60	+
1	nacht	+	beton	240	+
1	nacht	+	beton	5	+
1	nacht	+	beton	60	+
1	nacht	+	beton	240	+
2	dag	-	beton	5	+
2	dag	-	beton	60	-
2	dag	-	beton	240	+
2	dag	+	beton	5	+
2	dag	+	beton	60	+
2	dag	+	beton	240	+
2	nacht	-	beton	5	+
2	nacht	-	beton	60	+
2	nacht	-	beton	240	+
2	nacht	+	beton	5	+
2	nacht	+	beton	60	+
2	nacht	+	beton	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	metaal	5	+
1	dag	-	metaal	60	+
1	dag	-	metaal	240	+
1	dag	+	metaal	5	+
1	dag	+	metaal	60	+
1	dag	+	metaal	240	+
1	nacht	-	metaal	5	+
1	nacht	-	metaal	60	+
1	nacht	-	metaal	240	+
1	nacht	+	metaal	5	+
1	nacht	+	metaal	60	+
1	nacht	+	metaal	240	+
2	dag	-	metaal	5	+
2	dag	-	metaal	60	+
2	dag	-	metaal	240	+
2	dag	+	metaal	5	+
2	dag	+	metaal	60	+
2	dag	+	metaal	240	+
2	nacht	-	metaal	5	+
2	nacht	-	metaal	60	+
2	nacht	-	metaal	240	+
2	nacht	+	metaal	5	+
2	nacht	+	metaal	60	+
2	nacht	+	metaal	240	+

Resultaten Menno Clean op kunststof ruw en kunststof glad

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	kunststof ruw	5	+
1	dag	-	kunststof ruw	60	+
1	dag	-	kunststof ruw	240	+
1	dag	+	kunststof ruw	5	+
1	dag	+	kunststof ruw	60	+
1	dag	+	kunststof ruw	240	+
1	nacht	-	kunststof ruw	5	+
1	nacht	-	kunststof ruw	60	+
1	nacht	-	kunststof ruw	240	+
1	nacht	+	kunststof ruw	5	+
1	nacht	+	kunststof ruw	60	+
1	nacht	+	kunststof ruw	240	+
2	dag	-	kunststof ruw	5	+
2	dag	-	kunststof ruw	60	+
2	dag	-	kunststof ruw	240	+
2	dag	+	kunststof ruw	5	+
2	dag	+	kunststof ruw	60	+
2	dag	+	kunststof ruw	240	+
2	nacht	-	kunststof ruw	5	+
2	nacht	-	kunststof ruw	60	+
2	nacht	-	kunststof ruw	240	+
2	nacht	+	kunststof ruw	5	+
2	nacht	+	kunststof ruw	60	+
2	nacht	+	kunststof ruw	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	kunststof glad	5	+
1	dag	-	kunststof glad	60	+
1	dag	-	kunststof glad	240	+
1	dag	+	kunststof glad	5	+
1	dag	+	kunststof glad	60	+
1	dag	+	kunststof glad	240	+
1	nacht	-	kunststof glad	5	+
1	nacht	-	kunststof glad	60	+
1	nacht	-	kunststof glad	240	+
1	nacht	+	kunststof glad	5	+
1	nacht	+	kunststof glad	60	+
1	nacht	+	kunststof glad	240	+
2	dag	-	kunststof glad	5	+
2	dag	-	kunststof glad	60	+
2	dag	-	kunststof glad	240	+
2	dag	+	kunststof glad	5	+
2	dag	+	kunststof glad	60	+
2	dag	+	kunststof glad	240	+
2	nacht	-	kunststof glad	5	+
2	nacht	-	kunststof glad	60	+
2	nacht	-	kunststof glad	240	+
2	nacht	+	kunststof glad	5	+
2	nacht	+	kunststof glad	60	+
2	nacht	+	kunststof glad	240	+

Resultaten Jet 5 op glas, metaal en beton

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	glas	5	-
1	dag	-	glas	60	+
1	dag	-	glas	240	+
1	dag	+	glas	5	+
1	dag	+	glas	60	+
1	dag	+	glas	240	+
1	nacht	-	glas	5	-
1	nacht	-	glas	60	+
1	nacht	-	glas	240	+
1	nacht	+	glas	5	+
1	nacht	+	glas	60	+
1	nacht	+	glas	240	+
2	dag	-	glas	5	+
2	dag	-	glas	60	+
2	dag	-	glas	240	+
2	dag	+	glas	5	-
2	dag	+	glas	60	-
2	dag	+	glas	240	+
2	nacht	-	glas	5	-
2	nacht	-	glas	60	+
2	nacht	-	glas	240	+
2	nacht	+	glas	5	+
2	nacht	+	glas	60	+
2	nacht	+	glas	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	beton	5	-
1	dag	-	beton	60	-
1	dag	-	beton	240	-
1	dag	+	beton	5	+
1	dag	+	beton	60	+
1	dag	+	beton	240	+
1	nacht	-	beton	5	+
1	nacht	-	beton	60	+
1	nacht	-	beton	240	+
1	nacht	+	beton	5	+
1	nacht	+	beton	60	+
1	nacht	+	beton	240	+
2	dag	-	beton	5	-
2	dag	-	beton	60	-
2	dag	-	beton	240	+
2	dag	+	beton	5	+
2	dag	+	beton	60	+
2	dag	+	beton	240	+
2	nacht	-	beton	5	+
2	nacht	-	beton	60	+
2	nacht	-	beton	240	+
2	nacht	+	beton	5	-
2	nacht	+	beton	60	+
2	nacht	+	beton	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	metaal	5	+
1	dag	-	metaal	60	+
1	dag	-	metaal	240	+
1	dag	+	metaal	5	+
1	dag	+	metaal	60	+
1	dag	+	metaal	240	+
1	nacht	-	metaal	5	+
1	nacht	-	metaal	60	+
1	nacht	-	metaal	240	+
1	nacht	+	metaal	5	+
1	nacht	+	metaal	60	+
1	nacht	+	metaal	240	+
2	dag	-	metaal	5	+
2	dag	-	metaal	60	+
2	dag	-	metaal	240	+
2	dag	+	metaal	5	+
2	dag	+	metaal	60	+
2	dag	+	metaal	240	+
2	nacht	-	metaal	5	+
2	nacht	-	metaal	60	+
2	nacht	-	metaal	240	+
2	nacht	+	metaal	5	+
2	nacht	+	metaal	60	+
2	nacht	+	metaal	240	+

Resultaten Jet 5 op kunststof ruw en kunststof glad

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	kunststof ruw	5	+
1	dag	-	kunststof ruw	60	+
1	dag	-	kunststof ruw	240	+
1	dag	+	kunststof ruw	5	+
1	dag	+	kunststof ruw	60	+
1	dag	+	kunststof ruw	240	+
1	nacht	-	kunststof ruw	5	+
1	nacht	-	kunststof ruw	60	+
1	nacht	-	kunststof ruw	240	+
1	nacht	+	kunststof ruw	5	+
1	nacht	+	kunststof ruw	60	+
1	nacht	+	kunststof ruw	240	+
2	dag	-	kunststof ruw	5	+
2	dag	-	kunststof ruw	60	+
2	dag	-	kunststof ruw	240	+
2	dag	+	kunststof ruw	5	+
2	dag	+	kunststof ruw	60	+
2	dag	+	kunststof ruw	240	+
2	nacht	-	kunststof ruw	5	+
2	nacht	-	kunststof ruw	60	-
2	nacht	-	kunststof ruw	240	+
2	nacht	+	kunststof ruw	5	+
2	nacht	+	kunststof ruw	60	+
2	nacht	+	kunststof ruw	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	kunststof glad	5	+
1	dag	-	kunststof glad	60	+
1	dag	-	kunststof glad	240	+
1	dag	+	kunststof glad	5	+
1	dag	+	kunststof glad	60	+
1	dag	+	kunststof glad	240	+
1	nacht	-	kunststof glad	5	+
1	nacht	-	kunststof glad	60	+
1	nacht	-	kunststof glad	240	+
1	nacht	+	kunststof glad	5	+
1	nacht	+	kunststof glad	60	+
1	nacht	+	kunststof glad	240	+
2	dag	-	kunststof glad	5	+
2	dag	-	kunststof glad	60	+
2	dag	-	kunststof glad	240	+
2	dag	+	kunststof glad	5	+
2	dag	+	kunststof glad	60	+
2	dag	+	kunststof glad	240	+
2	nacht	-	kunststof glad	5	+
2	nacht	-	kunststof glad	60	+
2	nacht	-	kunststof glad	240	+
2	nacht	+	kunststof glad	5	+
2	nacht	+	kunststof glad	60	+
2	nacht	+	kunststof glad	240	+

Resultaten Virkon op glas, metaal en beton

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	glas	5	+
1	dag	-	glas	60	+
1	dag	-	glas	240	-
1	dag	+	glas	5	-
1	dag	+	glas	60	-
1	dag	+	glas	240	-
1	nacht	-	glas	5	+
1	nacht	-	glas	60	-
1	nacht	-	glas	240	+
1	nacht	+	glas	5	+
1	nacht	+	glas	60	+
1	nacht	+	glas	240	+
2	dag	-	glas	5	+
2	dag	-	glas	60	+
2	dag	-	glas	240	+
2	dag	+	glas	5	-
2	dag	+	glas	60	-
2	dag	+	glas	240	-
2	nacht	-	glas	5	+
2	nacht	-	glas	60	-
2	nacht	-	glas	240	-
2	nacht	+	glas	5	+
2	nacht	+	glas	60	-
2	nacht	+	glas	240	-

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	beton	5	+
1	dag	-	beton	60	-
1	dag	-	beton	240	+
1	dag	+	beton	5	+
1	dag	+	beton	60	-
1	dag	+	beton	240	+
1	nacht	-	beton	5	-
1	nacht	-	beton	60	-
1	nacht	-	beton	240	-
1	nacht	+	beton	5	+
1	nacht	+	beton	60	+
1	nacht	+	beton	240	+
2	dag	-	beton	5	+
2	dag	-	beton	60	-
2	dag	-	beton	240	-
2	dag	+	beton	5	+
2	dag	+	beton	60	-
2	dag	+	beton	240	+
2	nacht	-	beton	5	-
2	nacht	-	beton	60	-
2	nacht	-	beton	240	-
2	nacht	+	beton	5	+
2	nacht	+	beton	60	-
2	nacht	+	beton	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	metaal	5	+
1	dag	-	metaal	60	+
1	dag	-	metaal	240	+
1	dag	+	metaal	5	+
1	dag	+	metaal	60	+
1	dag	+	metaal	240	+
1	nacht	-	metaal	5	+
1	nacht	-	metaal	60	+
1	nacht	-	metaal	240	-
1	nacht	+	metaal	5	+
1	nacht	+	metaal	60	-
1	nacht	+	metaal	240	-
2	dag	-	metaal	5	+
2	dag	-	metaal	60	+
2	dag	-	metaal	240	+
2	dag	+	metaal	5	+
2	dag	+	metaal	60	+
2	dag	+	metaal	240	+
2	nacht	-	metaal	5	+
2	nacht	-	metaal	60	+
2	nacht	-	metaal	240	-
2	nacht	+	metaal	5	-
2	nacht	+	metaal	60	-
2	nacht	+	metaal	240	-

Resultaten Virkon op kunststof ruw en kunststof glad

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	kunststof ruw	5	+
1	dag	-	kunststof ruw	60	-
1	dag	-	kunststof ruw	240	+
1	dag	+	kunststof ruw	5	+
1	dag	+	kunststof ruw	60	+
1	dag	+	kunststof ruw	240	-
1	nacht	-	kunststof ruw	5	+
1	nacht	-	kunststof ruw	60	+
1	nacht	-	kunststof ruw	240	+
1	nacht	+	kunststof ruw	5	+
1	nacht	+	kunststof ruw	60	+
1	nacht	+	kunststof ruw	240	+
2	dag	-	kunststof ruw	5	+
2	dag	-	kunststof ruw	60	+
2	dag	-	kunststof ruw	240	-
2	dag	+	kunststof ruw	5	+
2	dag	+	kunststof ruw	60	-
2	dag	+	kunststof ruw	240	+
2	nacht	-	kunststof ruw	5	-
2	nacht	-	kunststof ruw	60	+
2	nacht	-	kunststof ruw	240	+
2	nacht	+	kunststof ruw	5	+
2	nacht	+	kunststof ruw	60	+
2	nacht	+	kunststof ruw	240	+

concentratie (%)	dag/nacht	RV	materiaal	inwerktijd (min)	plant
1	dag	-	kunststof glad	5	+
1	dag	-	kunststof glad	60	+
1	dag	-	kunststof glad	240	+
1	dag	+	kunststof glad	5	+
1	dag	+	kunststof glad	60	+
1	dag	+	kunststof glad	240	+
1	nacht	-	kunststof glad	5	+
1	nacht	-	kunststof glad	60	+
1	nacht	-	kunststof glad	240	+
1	nacht	+	kunststof glad	5	+
1	nacht	+	kunststof glad	60	+
1	nacht	+	kunststof glad	240	+
2	dag	-	kunststof glad	5	+
2	dag	-	kunststof glad	60	+
2	dag	-	kunststof glad	240	+
2	dag	+	kunststof glad	5	+
2	dag	+	kunststof glad	60	-
2	dag	+	kunststof glad	240	-
2	nacht	-	kunststof glad	5	+
2	nacht	-	kunststof glad	60	+
2	nacht	-	kunststof glad	240	+
2	nacht	+	kunststof glad	5	+
2	nacht	+	kunststof glad	60	+
2	nacht	+	kunststof glad	240	-