

# Beheersingsmaatregelen HVX

Versie 2 (aangevuld met resultaten 2<sup>e</sup> jaars toetsingen spoel- en snijproeven)

M. de Kock, M. Dijkema, C. Slootweg en P. van Dalven

© 2011 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Alle intellectuele eigendomsrechten en auteursrechten op de inhoud van dit document behoren uitsluitend toe aan de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Elke openbaarmaking, reproductie, verspreiding en/of ongeoorloofd gebruik van de informatie beschreven in dit document is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Projectnummer: 32 360905 00,

## Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR Business Unit Bloembollen Boomkwekerij en Fruit

Address : Postbus 16, 6700 AA Wageningen  
: Wageningen Campus, Droevendaalsesteeg 1, Wageningen  
Tel. : +31 252 48 21 21  
Fax : +31 252 46 21 00  
E-mail : [info.ppo@wur.nl](mailto:info.ppo@wur.nl)  
Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING .....	7
2 OVERLEVING VAN HVX BUITEN DE PLANT.....	9
2.1 DEP - Dilution end point of the infectivity of sap .....	9
2.2 LIV - Longevity of the infectivity of sap <i>in vitro</i> .....	10
2.3 TIP: thermal inactivation point .....	10
2.4 Aanwezigheid HVX op wortels .....	11
3 EFFECTIEVE REINIGING VAN DE HANDEN TIJDENS DE VERWERKING VAN HOSTA'S, TER VOORKOMING VAN OVERDRACHT VAN HVX.....	13
3.1 Inleiding .....	13
3.2 Reiniging van de handen.....	14
3.3 Adviezen voor het voorkomen van overdracht van HVX via de handen tijdens de verwerking van Hosta's.....	17
4 DE SNELHEID VAN AANTOONBAARHEID VAN HVX M.B.V. ELISA .....	19
4.1 Inleiding .....	19
4.2 Materiaal en methode.....	19
4.3 Resultaten.....	19
4.4 Conclusies .....	20
5 VOORKOMEN VAN HVX-OVERDRACHT TIJDENS EN NA SPOELEN.....	21
5.1 Inleiding .....	21
5.2 Materiaal en methode.....	21
5.3 Resultaten en Discussie.....	22
5.4 Conclusies .....	24
6 ONTSMETTEN VAN SPOELWATER.....	25
6.1 Ozon.....	25
6.1.1 Achtergrond .....	25
6.1.2 Ozon als desinfectans .....	26
6.1.3 Toxiciteit van ozon .....	26
6.2 Ultraviolet licht.....	27
6.2.1 Achtergrond .....	27
6.2.2 Beschikbaar apparaat .....	27
6.3 Aquanox®.....	28
6.3.1 Achtergrond .....	28
6.3.2 Toepassing .....	28
6.4 Ultrasoon geluid .....	28
6.5 Hitte .....	29
6.6 Conclusie .....	29
7 VOORKOMEN VAN HVX-OVERDRACHT TIJDENS SNIJDEN .....	31
7.1 Inleiding .....	31
7.2 Materiaal en methode.....	31
7.3 Resultaten.....	32
7.4 Conclusies .....	32

8	POTENTIËLE BIOLOGISCH VECTOREN VAN POTEXVIRUSSEN .....	33
9	CONCLUSIES EN IMPLEMENTATIE .....	35
	BIJLAGE – 1 .....	37

# Samenvatting

Naar aanleiding van de verkregen kennis uit het onderzoek aan Hosta Virus X (HVX) van de afgelopen jaren is in dit project onderzoek gedaan naar maatregelen waarmee verspreiding van HVX voorkomen of beheerst kan worden. Dit onderzoeksproject heeft enerzijds nieuwe kennis over HVX opgeleverd. Anderzijds is ook aangetoond dat er maatregelen zijn om verspreiding van HVX te beperken of zelfs te voorkomen:

## Stabiliteit HVX

HVX blijkt bij 20°C tot 1.5 à 2 maanden buiten de plant aantoonbaar te zijn. Bij lagere temperaturen is HVX nog langer stabiel. HVX is tot ±55 à 60°C stabiel, maar kan geïnactiveerd/bestreden worden door verhitting bij 65°C gedurende minimaal 7 minuten. Deze kennis moet enerzijds toegepast worden bij het inschatten en toepassen van de juiste bedrijfshygiënische maatregelen en het reinigen van werkoppervlakten, spoelwater, fusten, gereedschap etc. Anderzijds is deze kennis ook belangrijk voor het composteren van plantaardig materiaal dat besmet kan zijn met virussen als HVX.

## De snelheid van aantoonbaarheid van HVX m.b.v. ELISA

In het eerste jaar na infectie met HVX zal slechts een gedeelte van de geïnfecteerde planten met ELISA gedetecteerd kunnen worden. Pas in het tweede jaar na infectie is het percentage HVX met ELISA betrouwbaar te bepalen.

## Voorkomen van HVX-overdracht tijdens en na spoelen

Dompeling van de planten in magere melk vóór het spoelen kan de mate van verspreiding tijdens het spoelen enigszins beperken. Overdracht van HVX tijdens het spoelen lijkt daarentegen effectief bestreden te kunnen worden door dompeling van planten na het spoelen in minimaal 3% Middel A. Dompeling in magere melk na het spoelen lijkt de overdracht enigszins te kunnen beperken. Helaas is er geen registratie voor dompeling van plantmateriaal in Middel A. Een vergelijkbare registratie is zo ver als bekend niet noodzakelijk voor het dompelen in magere melk.

## Effectieve reiniging van handen

HVX blijkt in hoge concentraties voor te komen op de buitenkant van wortels. Handen kunnen hierdoor eenvoudig bevuild worden met HVX. In het rapport is een overzicht van reinigingsmiddelen voor handen beschreven. Tevens zijn er instructies opgenomen voor effectief wassen van handen en aanvullende adviezen ter voorkoming van overdracht via de handen.

## Ontsmetten van spoelwater

Er is een literatuurstudie gedaan naar mogelijkheden om virusbesmet spoelwater te ontsmetten. Toepassing van ozon en ultraviolet (UV) licht en hitte zijn het meest effectief. Voor toepassing van Aquanox, NOW water, Anolyte en Utrasoon geluid is in de literatuur geen overtuigend bewijs gevonden. Het is momenteel nog onduidelijk in hoeverre mechanismen als ozon en UV-licht kostenefficiënt toe te passen zijn in een spoelbedrijf.

## Voorkomen van HVX-overdracht tijdens snijden

Overdracht van HVX kan effectief voorkomen worden door het mes tussentijds te dompelen in middelen als Menno Clean, Middel B of magere melk. Tevens is verhitting van het mes effectief.

## Potentiële biologische vectoren van HVX

Op basis van een literatuurstudie zijn er geen aanwijzingen gevonden dat er biologische vectoren betrokken kunnen zijn bij de verspreiding van HVX. Vanuit praktijkgericht onderzoek zijn er ook nog steeds geen signalen dat HVX via een biologische vector verspreid kan worden.



# 1 Inleiding

Hosta is één van belangrijkste producten voor de vaste plantenexport naar USA en Canada. Nederland wordt herhaaldelijk aangewezen als bron van planten die besmet zijn met Hosta Virus X (HVX). In gesprekken tussen Anthos en USDA is afgesproken dat Hosta-partijen met hoogstens 5% HVX geëxporteerd zullen worden. Nederlandse exporteurs hebben dus nog kort de tijd gekregen om te bewijzen dat men gezonde Hosta's kan leveren. Als dit niet lukt, is een belangrijke pijler onder de vaste plantenexport verdwenen. In het kielzog hiervan kan de verdere export van andere vaste planten ook onder druk komen te staan.

Het virus wordt, zover bekend, voornamelijk mechanisch overgebracht. Inzicht in het risico van de verschillende teelthandelingen is nodig om verspreiding van het virus tegen te gaan. Juist het feit dat het virus kan vóórkomen zonder symptomen te geven, maakt het extra belangrijk om de infectieroutes in kaart te hebben. De effecten van de belangrijkste teelthandelingen zijn in 2004-2008 onderzocht (PT project 12051). Van een aantal handelingen is duidelijk geworden dat het risico op verspreiding klein of niet aanwezig is. Van een aantal handelingen is aangetoond dat zij een matig tot groot risico op virusverspreiding opleveren. Vooral spoelen en in mindere mate snijden kunnen virusoverdracht geven. Daarnaast is de vraag, hoe snel na een primaire infectie alle planten die besmet zijn met HVX aangetoond kunnen worden, nog niet beantwoord.

Naar aanleiding van de verkregen kennis uit het HVX-onderzoek van de afgelopen jaren is in dit project onderzoek gedaan naar maatregelen waarmee verspreiding van HVX voorkomen of beheerst kan worden. De verschillende onderwerpen in dit onderzoek zijn door middel van kennisvouchers en eigen middelen van een aantal Hosta-telers en spoelbedrijven gefinancierd. De coördinatie van deze onderzoeksactiviteiten en de communicatieactiviteiten zijn gefinancierd door het PT. De volgende onderwerpen worden in dit rapport beschreven:

- Overleving van HVX buiten de plant
- Effectieve reiniging van de handen tijdens de verwerking van Hosta's, ter voorkoming van overdracht van HVX
- De snelheid van aantoonbaarheid van HVX m.b.v. ELISA
- Voorkomen van HVX-overdracht tijdens en na spoelen
- Ontsmetten van spoelwater
- Voorkomen van HVX-overdracht tijdens snijden
- Potentiële biologisch vectoren van potexvirussen

De deelnemende bedrijven waren:

- Brinkman Agro BV, 's-Gravenzande, toeleverancier
- Mts. Colenbrander, Linde, teler
- Heemskerk Vaste Planten, Noordwijk, teler
- Helmus spoelbedrijf, Sassenheim, spoelbedrijf
- Maas & van Stein, Hillegom, teler
- Molter BV, Noordwijkerhout, teler
- Vilier Vastplanten, Boerdonk, teler
- P. Th. Warmerdam, Noordwijk, teler
- Warmerdam spoelbedrijf, Noordwijkerhout, spoelbedrijf
- Mts. E. Witteman, De Wilp, teler





## 2 Overleving van HVX buiten de plant

Hosta virus X behoort tot de groep van potexvirussen. Tot de groep van potexvirussen behoren officieel 22  
verschillende plantenvirussen (

Bijlage – 1). Daarnaast is er een groep van 33 plantenvirussen die alle kenmerken van potexvirussen hebben, maar nog niet ‘officieel’ tot de potexvirussen behoren. Een aantal andere potexvirussen die in Nederland voorkomen zijn het aardappelvirus X (Potato Virus X), Cymbidium virus X, Pepinivirus X en Tulpenvirus X (TVX).

Mechanische verspreiding en een relatief lange stabiliteit van het virus buiten de plant is kenmerkend voor potexvirussen. Omdat Hosta virus X nog een relatief nieuw en onbekend virus is, is er geen informatie bekend over de stabiliteit van het virus en de overleving van het virus buiten de plant. In kleinschalige experimenten is in jan/feb 2010 onderzoek gedaan naar de stabiliteit en overleving van het HVX buiten de plant (zie hoofdstuk 2.3).

Voor een groot aantal potexvirussen zijn deze fysische eigenschappen in het verleden bepaald (Bijlage 1). De mate waarin een virus buiten de plant kan overleven wordt bepaald door drie fysische eigenschappen:

	<i>Engelse term</i>	<i>Nederlandse uitleg</i>	<i>eenheid</i>
1	<b>DEP:</b> dilution end point of the infectivity of sap	Verdunningspunt waarop virusgeïnfecteerd plantensap z'n besmettelijkheid verliest	log schaal; 1=10x verdunnen, 2=100x verdunnen, 3=1.000x verdunnen, enz.
2	<b>LIV:</b> longevity of the infectivity of sap <i>in vitro</i>	Levensduur van de besmettelijkheid van virusgeïnfecteerd plantensap	dagen/weken/maanden
3	<b>TIP:</b> thermal inactivation point; lowest temperature at which infectivity of sap is destroyed in 10 min	Laagste temperatuur waarbij virusgeïnfecteerd plantensap z'n besmettelijkheid in 10 minuten verliest	°C

## 2.1 DEP - Dilution end point of the infectivity of sap

Wat betreft het verdunningspunt waarop plantensap met virus z'n besmettelijk verliest (DEP), zijn de meeste potexvirussen 10.000 tot 1.000.000 x te verdunnen ( $\log^4 - \log^6$ ). Er zijn enkele uitzonderingen waarbij het virus minder goed te verdunnen is wil het z'n besmettelijkheid nog behouden ( $\log^3$ ). Daarentegen zijn er ook virussen waarvan het plantensap zelfs 1.000.000.000x (een miljard keer) te verdunnen is (Tulpenvirus X, Viola mottle virus).

Voor Hosta virus X is het erg moeilijk om deze parameter te bepalen. De virusconcentratie in de plant is niet constant maar neemt gedurende het seizoen toe. Daarnaast wordt de besmettelijkheid van een virus bepaald door toetsplanten te infecteren met een verdunningsreeks van virussap. Toetsplanten zijn zeer vatbaar voor een virus en laten eenvoudig virussymptomen zien. Helaas is een dergelijke toetsplant voor HVX niet aanwezig. Met behulp van PCR of ELISA is de aanwezigheid van virus te bepalen. Vanuit onderzoek is bekend dat spoelwater waarin HVX aanwezig is in concentraties lager dan de ELISA-detectiegrens, toch besmettelijk/infectieus kan zijn (PT-project 12051). De PCR-toets is daarentegen veel gevoeliger, maar kan ook 'dode' of beschadigde en niet besmettelijke virusdeeltjes detecteren.

Vanuit het voorgaande HVX-onderzoek is bekend dat zeer lage concentraties HVX in het spoelwater nog steeds tot nieuwe infecties kunnen leiden. HVX-sap zal daarom zeker tot grote mate te verdunnen zijn met nog steeds kans op infectie.

## 2.2 LIV - Longevity of the infectivity of sap *in vitro*

Een gangbare levensduur van potexvirussen in plantensap is tussen de één en anderhalve maand (25 – 60 dagen)

Bijlage – 1). Sommige potexvirussen hebben echter een korte levensduur (1 dag) maar er zijn ook potexvirussen die een zeer lange levensduur hebben (meer dan 3 maanden).

Voor HVX is de levensduur bepaald door plantensap van een virusgeïnfecteerde plant gedurende enkele weken met een Agdia Immunostrip te analyseren. Wanneer dit virussap bij 20°C werd bewaard, dan werd met de immunostrip na 44 dagen nog steeds een duidelijk positieve uitslag verkregen. Na 60 dagen werd het resultaat zwakker. Bij bewaring in de koelkast was na 104 dagen het HVX nog steeds met een immunostrip aan te tonen, al werd het signaal zwakker.

Deze analyse geeft aan dat HVX in plantensap relatief lang stabiel is en na weken en zelfs enkele maanden nog steeds met serologische methoden aan te tonen is. De levensduur van de besmettelijkheid van virussen in de praktijk is echter voor een groot gedeelte afhankelijk van de milieuomstandigheden waarin het virus aanwezig is:

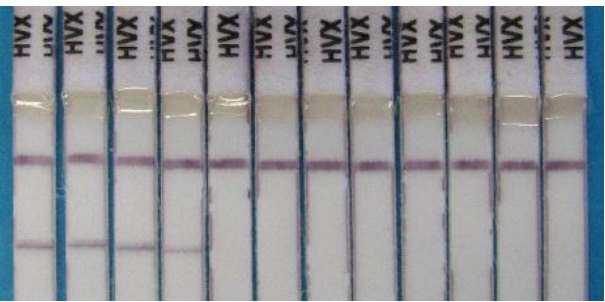
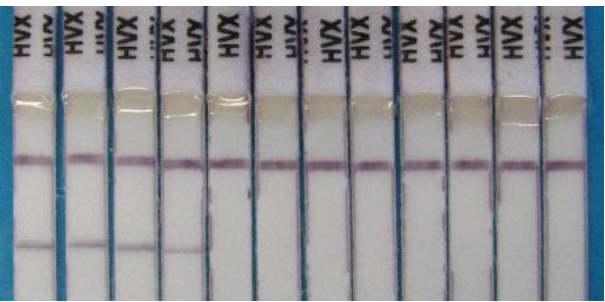
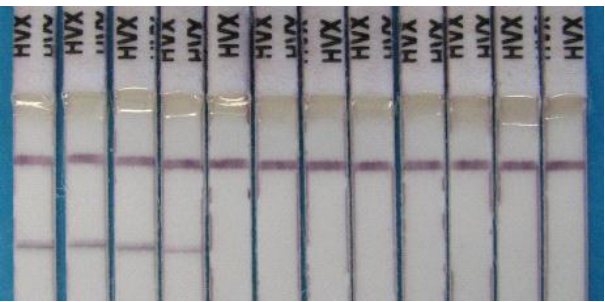
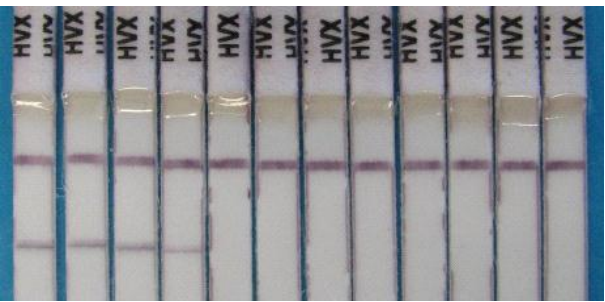
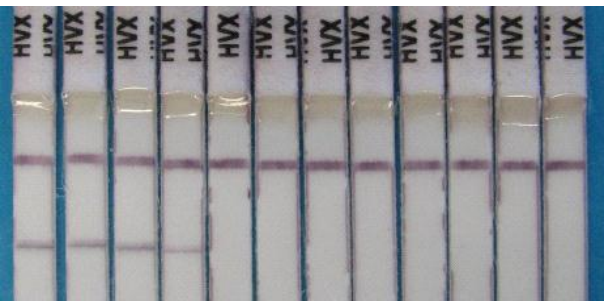
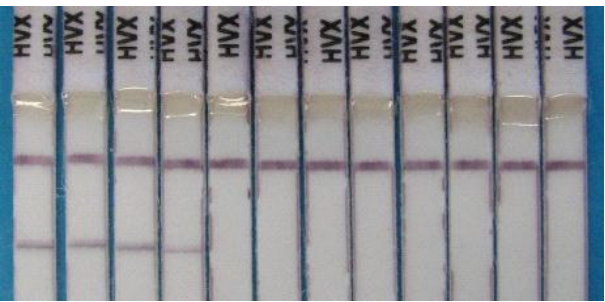
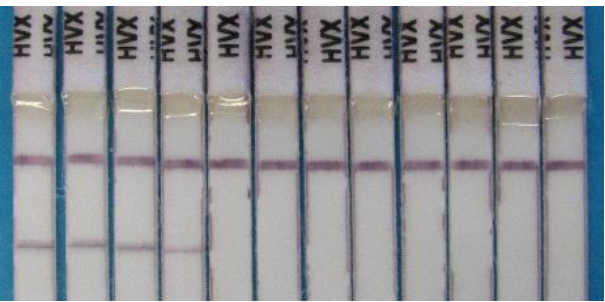
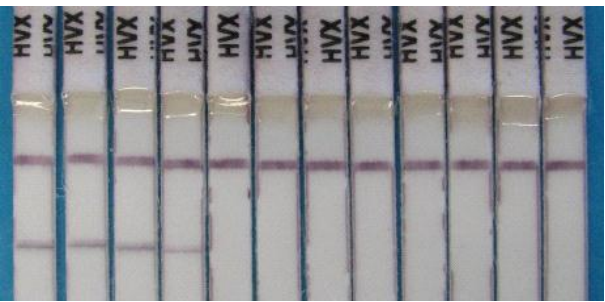
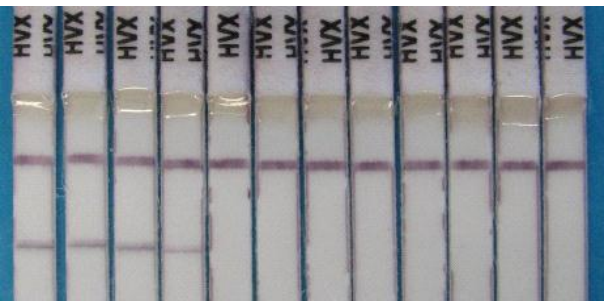
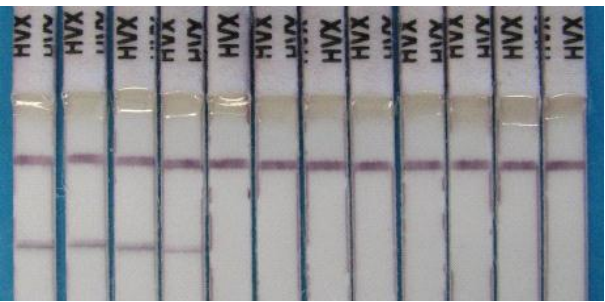
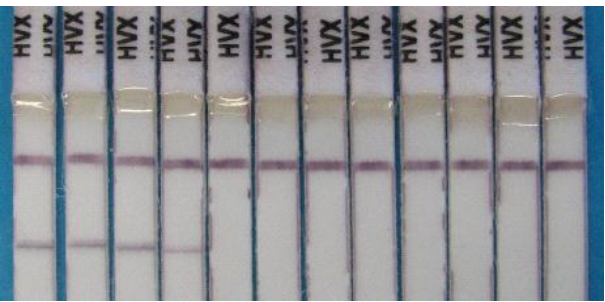
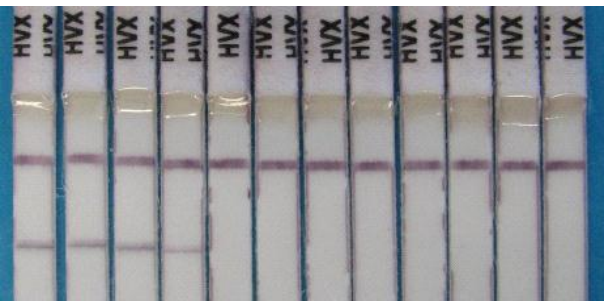
- In plantensap op een oppervlak, of in een waterig milieu
- Als ingedroogd virus op een ondergrond (plastic, hout, metaal)
- De aanwezigheid van plantenresten, bacteriën, zand
- Concentratie van het virus

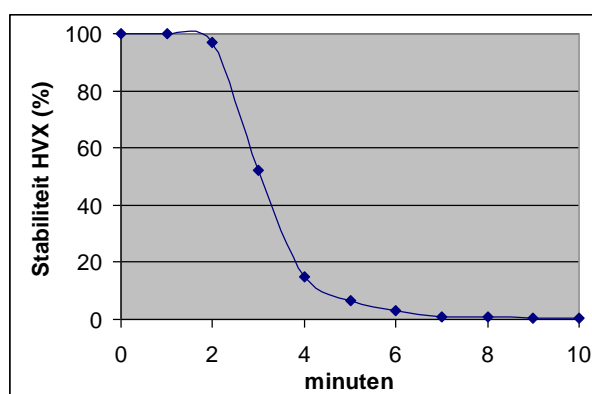
Daarnaast is voor een virusbesmetting van een gezonde plant wondweefsel of beschadiging van het weefsel nodig. Omdat dit soort parameters niet te standaardiseren is, wordt er voor HVX van uitgegaan dat HVX buiten de plant waarschijnlijk enkele weken besmettelijk is.

## 2.3 TIP: thermal inactivation point

Zoals al het biologisch materiaal zijn ook virussen gevoelig voor hogere temperaturen. De meeste potexvirussen verliezen hun besmettelijkheid wanneer deze voor minimaal 10 minuten worden blootgesteld aan 70°C. In een dergelijke analyse is voor HVX aangetoond dat verwarming gedurende 10 minuten bij temperaturen van 65°C of hoger, HVX geïnactiveerd kan worden (Tabel 1). De tijdsduur voor inactivatie van HVX bij 65°C is in meer detail bestudeerd (Figuur 1). Op basis van deze analyse blijkt dat HVX na 7 minuten verhitting bij 65°C geïnactiveerd kan worden.

**Tabel 1.** Onderzoek naar de inactivatietemperatuur voor HVX. Plantensap met HVX is gedurende 10 minuten verwarmd bij verschillende temperaturen. Aansluitend is de aanwezigheid van HVX bestudeerd m.b.v. de Agdia HVX Immunostrip (+++ =positief, ++ = zwak-positief, - = negatief).

Nr.	Temperatuur	ELISA waarde	Immuno-strip HVX	Immunostrip HVX											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	20°C	1.62	+++												
2.	50°C	1.13	+++												
3.	55°C	0.65	+++												
4.	60°C	0.17	++												
5.	65°C	0	-												
6.	70°C	0	-												
7.	75°C	0	-												
8.	80°C	0	-												
9.	85°C	0	-												
10.	90°C	0	-												
11.	95°C	0	-												
12.	100°C	0	-												



**Figuur 1.** Relatie tussen stabiliteit van HVX en de tijdsduur waarbij HVX-besmet plantensap verwarmd is bij 65°C.

## 2.4 Aanwezigheid HVX op wortels

Normaliter komen virusdeeltjes uitsluitend in plantencellen voor. Virusdeeltjes komen uitsluitend door verwonding of beschadiging vrij vanuit plantencellen. Vanuit voorgaand onderzoek (PT-project 12051) is bekend geworden dat HVX met name tijdens het spoelen van wortels zich verspreidt. Het was echter onduidelijk of dit virus als gevolg van beschadiging tijdens het spoelen uit de wortels vrij komt, of dat HVX al aan de buitenkant van de wortels aanwezig is vlak voordat de wortels gespoeld worden.

De aanwezigheid van HVX op ongespoelde wortels van Hosta-planten is bestudeerd met veegproeven en ELISA. Het blijkt dat het vegen met een filtreerpapertje langs een enkele viruszieke plant al kan resulteren in een positief ELISA-resultaat (Tabel 2). Wanneer steviger over wortels van verschillende viruszieke planten wordt geveegd, dan worden relatief hoge ELISA-waarden verkregen.

**Tabel 2.** Aanwezigheid van HVX aan buitenkant van Hosta-wortels bepaald met veegproeven met filtreerpapier. De aanwezigheid van HVX op filtreerpapier is bepaald met behulp van ELISA. Een ELISA-waarde lager dan 0.15 is een negatief resultaat, een ELISA-waarde gelijk of hoger dan 0.15 is een positief resultaat. Ter controle is plantensap van een gezonde en een viruszieke plant met ELISA-bestudeerd.

	Manier van vegen met filtreerpapertje	ELISA waarde	Resultaat
	1x vegen (los) langs 1 zieke plant	0.54	positief
	1x vegen (steviger) langs 1 zieke plant	0.51	positief
	1x vegen (los) langs 2 zieke planten	0.63	positief
	1x vegen (steviger) langs 2 zieke planten	0.87	positief
	1x vegen (los) langs 3 zieke planten	0.13	negatief
	1x vegen (steviger) langs 3 zieke planten	1.16	positief
	2x vegen (los) langs 3 zieke planten	0.34	positief
	2x vegen (steviger) langs 3 zieke planten	1.28	positief
	3x vegen (los) langs 3 zieke planten	0.39	positief
	3x vegen (steviger) langs 3 zieke planten	1.62	positief
	<i>Controles</i>		
	Plantensap van gezonde plant	0	negatief
	Plantensap van HVX-besmette plant	2.37	positief

Deze resultaten geven aan dat voorafgaand aan het spoelen er (veel) HVX aanwezig is op de wortels. Tijdens het spoelen wordt dit virus van de wortels afgespoeld en kan het virus andere wortels infecteren wanneer deze tijdens het spoelen beschadigd raken. Beschadiging van wortels tijdens het spoelen is dus niet nodig voor het vrijkomen van HVX tijdens het spoelproces.

Omdat aangetoond is dat HVX langdurig buiten de plant/wortels actief kan zijn (serologisch aantoonbaar is), wordt verwacht dat HVX in het spoelwater, op gereedschap, werkoppervlakten en fusten ook langere tijd aanwezig en biologisch stabiel kan blijven. De besmettelijkheid van HVX is in de praktijk echter voor een groot gedeelte mede afhankelijk van de milieuomstandigheden waarin het virus aanwezig is.

## 3 Effectieve reiniging van de handen tijdens de verwerking van Hosta's, ter voorkoming van overdracht van HVX

### 3.1 Inleiding

#### Aanleiding

De laatste 5 à 10 jaar is duidelijk geworden hoe groot het Hosta Virus X-probleem in de Hosta-teelt is en hoezeer de export van Hosta naar o.a. de VS en daarmee de Hosta-teelt, in gevaar zijn.

Onderzoek dat sinds 2004 in opdracht van het Productschap Tuinbouw bij PPO Bollen, Bomen en Fruit wordt uitgevoerd, heeft uitgewezen dat voornamelijk tijdens het spoelen van de planten de kans op overdracht van HVX groot is. Daarnaast is niet uit te sluiten dat tijdens het sorteren en het rooien van de planten ook in geringe mate overdracht van HVX plaats kan vinden.

Omdat vanaf het moment van rooien tot en met het moment van planten, er veelvuldig handcontact met de planten is (met name tijdens het sorteren van de planten) en HVX een mechanisch overdraagbaar virus is, is het niet uit te sluiten dat tijdens dit hand-plantcontact, enige overdracht van HVX plaatsvindt. Het regelmatig reinigen van de handen zou daarom een goede aanvullende hygiënemaatregel kunnen zijn om de overdracht van HVX tijdens de verwerking verder te reduceren.

#### Doelstelling

Het formuleren van adviezen voor een effectieve reiniging van de handen tijdens de verwerking van Hosta's, ter voorkoming van overdracht van HVX. Naast directe toepassing bij het verwerken van Hosta-planten zijn deze adviezen ook in breder verband van toepassing ter voorkoming van virusverspreiding bij andere gewassen en het beperken van verspreiding van andere ziekteverwekkers als bacteriën en schimmels.

#### Aanpak van deze studie

De verschillende typen reinigingsmiddelen zijn in kaart gebracht, als ook de effectiviteit van deze middelen ten aanzien van het inactiveren van virussen. Van deze verschillende typen reinigingsmiddelen worden een aantal voorbeelden genoemd. Een groot deel van deze informatie is afkomstig uit studies bij humane virussen, omdat uitgebreid onderzoek naar de effectiviteit van deze middelen bij plantenvirussen ontbreekt.

Tevens is een methode van reiniging van de handen weergegeven die wordt toegepast in de tomatenteelt, een teelt waarbij de overdracht van pepinomozaïekvirus (PepMV) een groot risico vormt. PepMV is een virus dat tot dezelfde groep van virussen behoort als HVX (potex-virussen). WUR Glastuinbouw heeft naar de verspreiding van dit virus onderzoek gedaan en heeft in het daaruit voortgevloeide 'Hygiëneprotocol Tomaat' adviezen opgesteld ter voorkoming van virusoverdracht.

Omdat bij het reinigen van de handen vaak niet alle delen van de hand worden bereikt, wordt in dit document ook stilgestaan bij de juiste 'techniek' die moet worden toegepast bij het reinigen van de handen.

Tot slot wordt een aantal adviezen gegeven voor het reinigen van de handen bij de verwerking van Hosta's, ter voorkoming van HVX-overdracht via de handen. Deze kennis wordt door middel van dit verslag aan alle bedrijven die via een kennismatje deelnemen aan het HVX-onderzoek 2009-2010, overgedragen.

## 3.2 Reiniging van de handen

### Type middelen voor de reiniging van handen en hun effectiviteit tegen virussen

Het meest bekende product om de handen mee te reinigen is de ~~gewone zeep~~. Bij het reinigen van de handen met zeep worden vnl. (zichtbaar) vuil, plantenresten en vetten van de handen verwijderd. In zeer beperkte mate vindt ook verwijdering van micro-organismen plaats. Met name de micro-organismen die zich in het vuil (dus ook plantenresten) bevinden, worden verwijderd.

Een ander, in de medische wereld veel gebruikt middel om de handen mee te reinigen, is alcohol (ethanol of isopropanol). Alcohol is zeer effectief tegen de meeste bacteriën. Vanuit onderzoek bij humane virussen is bekend dat alcohol veel minder effectief is tegen virussen. Bij een aantal zgn. *enveloped* ('verpakte') humane virussen is de effectiviteit van alcohol aangetoond. Het aantal zgn. *non-enveloped* (niet 'verpakte') humane virussen waarbij de effectiviteit van alcohol is aangetoond, is zeer beperkt. Alle plantenvirussen, incl. HVX, behoren tot deze laatste groep van *non-enveloped* virussen. De vereiste contacttijd met het product is bij de *non-enveloped* virussen meestal vrij lang, nl. 1 à 2 minuten. Het wassen met alcohol moet daarom enkele minuten duren wil er enig desinfecterend effect zijn. Bij humane virussen is de effectiviteit van ethanol groter dan van isopropanol.

→ *Belangrijke opmerking bij het werken met alcohol: let op brandgevaar (blussen met overvloedig water) en alcohol is schadelijk voor de huid (uitdroging)*

Een derde groep van reinigingsproducten zijn de ~~antimicrobiële zepen~~. Een deel van deze producten is samengesteld uit een zeep en uit een alcohol. Op grond van de reeds eerder beschreven werking van de afzonderlijke bestanddelen van deze anti-microbiële zepen, is niet te verwachten dat deze zepen werkzaam zijn tegen plantenvirussen en HVX.

Er zijn ook anti-microbiële zepen die zijn samengesteld uit een zeep en een andere anti-microbiële component, bv. Chloorhexidine of Hexachlorophene. Van de meeste van deze anti-microbiële stoffen is in de humane wereld geen desinfecterende werking bekend tegen *non-enveloped* virussen. Er wordt daarom ook geen desinfecterende activiteit voor HVX verwacht. Ook zijn er middelen met benzoëzuur als anti-microbiële component. Ook hiervan is onvoldoende bewezen dat het effectief is tegen non-enveloped virussen als HVX.

## Overzicht reinigingsmiddelen

In

Tabel 3 wordt een overzicht gegeven van een aantal middelen uit de hiervoor beschreven groepen van reinigings-/desinfecterende middelen. Een deel van deze middelen wordt toegepast in de medische sector, een deel wordt toegepast in -, of is ontwikkeld voor de veterinaire en/of plantaardige sector. Bij een aantal van de middelen die in de tabel worden genoemd, wordt een werking tegen virussen geclaimd, maar harde bewijzen wat betreft de effectiviteit van betreffend middel (onderzoeksresultaten) zijn niet te achterhalen.

Tabel 3. Overzicht van een aantal middelen voor reiniging van de handen en hun effectiviteit tegen virussen

Middel (fabrikant)	Werkzame bestanddelen			Desinfecterende werking tegen virussen <sup>2</sup>	Opmerking
	Zeep	Alcohol <sup>1</sup>	Overige stoffen		
Sterilium viriguard (Bode) <sup>3</sup>	+	95% Ethanol	-	Sommige <i>enveloped</i> en <i>non-enveloped</i> virussen <sup>4</sup>	Gebruikt in medische sector en weefselkweek
Spitaderm (Ecolab BV)	+	Propanol	Chloorhexidine	Claim: enkele <i>enveloped</i> en <i>non-enveloped</i> virussen	Gebruikt in medische sector
Sensisept (JohnsonDiversey)	+	-	Chloorhexidine	Claim: veel soorten virussen	Gebruikt in medische sector
Handalcohol <sup>5</sup>	-	Ethanol of isopropanol <sup>5</sup>	-	Sommige <i>enveloped</i> en <i>non-enveloped</i> virussen <sup>4</sup>	Gebruikt in medische sector
Germstart (Germcontrol)	-	70% Isopropanol	-	Sommige <i>enveloped</i> en <i>non-enveloped</i> virussen <sup>4</sup>	Gebruikt in medische sector
Dax Alcolgel (Dialex Biomedica NV)	-	Ethanol	-	Claim: diverse soorten virussen	Gebruikt in medische sector
Menno H <sup>6</sup> , Enno Rapid <sup>7</sup> (Brinkman Agro BV)	+ -	+ +	Organische zuren	Aanwijzingen effectiviteit tegen pepinomozaïekvirus (onderzoek WUR)	Gebruik in tuinbouw

<sup>1</sup> Bij desinfectie met alcohol moeten de handen eerst goed gewassen worden met zeep (al het vuil verwijderen). Pas desinfectie met alcohol alleen toe op een droge huid (voorkomt verdunning van de alcohol) en pas op met wondjes. Was na desinfectie met alcohol altijd de handen na met water en droog de handen goed af. Werk in een goed geventileerde ruimte wanneer ontsmetting met alcohol wordt toegepast. *Let bij het werken met alcohol op brandgevaar (blussen met overvloedig water) en de schadelijkheid voor de huid (uitdroging) !!!*

<sup>2</sup> Indien vermeld 'Claim', dan geen harde bewijzen vanuit onderzoek te achterhalen

<sup>3</sup> Ook andere formuleringen van Sterilium op de markt die minder effectief zijn tegen virussen

<sup>4</sup> Kennis uit onderzoek met humane virussen

<sup>5</sup> Alcohol waaraan bestanddeel is toegevoegd om ontvetten handen tegen te gaan

<sup>6</sup> Bevat zeepachtige stoffen. Te gebruiken voor desinfectie en hygiënisch wassen van natte handen (bij wastafel)

<sup>7</sup> Te gebruiken voor desinfectie en hygiënisch wassen van droge handen (tijdens gewaswerkzaamheden)



### Reiniging handen in tomatenteelt

In de tomatenteelt draagt men bij het uitvoeren van gewashandelingen (gladde) handschoenen om verspreiding van Pepinomozaïekvirus tegen te gaan. Bij steeds meer tomatentelers wordt ook de gewoonte gehanteerd om, als extra veiligheid, de handen, voor het aantrekken van de handschoenen, te reinigen met zeep uit een dispenser of met een middel op basis van alcohol waarbij geen water nodig is.

Door WUR Glastuinbouw is in het verleden in een kleinschalig experiment gekeken naar de effectiviteit van Menno H tegen pepinomozaïekvirus (zie ook Tabel 1). In dit experiment werd virusoverdracht voorkomen. Omdat dit op zeer beperkte schaal is uitgetest, is het te vroeg om hier conclusies uit te trekken, zeker ook als het gaat om de effectiviteit tegen HVX.

### Het effectief reinigen van de handen: de 'techniek' van het handen wassen

Vaak worden de handen vluchtig gewassen, zonder echt alle plaatsen en holtes op en in de hand te bereiken. Voor een effectieve reiniging van de handen, wordt geadviseerd op de volgende wijze te werk te gaan (zie ook Figuur 2):

1. Open de kraan. Elleboogkranen moeten altijd met de elleboog worden bediend. Het water moet flink stromen.
2. Maak de handen goed nat en voorzie deze vervolgens van een laag vloeibare zeep uit een dispenser.
3. Wrijf de handen vervolgens minimaal 10 seconden goed over elkaar, waarbij ook de rug van de hand, de vingertoppen, de duimen, de gebieden tussen de vingers en de polsen goed worden ingewreven (zie Figuur 1 t/m 6). Verwijder vuil onder de nagels met een borsteltje.
4. Wanneer er geen zichtbaar vuil meer op de huid zit, spoel dan de handen goed af met een ruime hoeveelheid water.
5. Droog de handen goed af met een wegwerp handdoekje/papier, ook de polsen en de huid tussen de vingers goed drogen.
6. Sluit de kraan met de elleboog of met een wegwerp handdoekje
7. Deponeer de gebruikte handdoek in de daarvoor bestemde container.

*Figuur 2. Een juiste reiniging van de handen*



1. Palm op palm



2. Palm op rug



3. Palm op palm, in elkaar gestrengelde vingers



4. De rug van de vingers op de andere palm



5. Draai de duimen in de palm



6. Draai de vingers in de palm

### 3.3 Adviezen voor het voorkomen van overdracht van HVX via de handen tijdens de verwerking van Hosta's

OM TIJDENS DE VERWERKING VAN HOSTA'S OVERDRACHT VAN HVX VIA DE HANDEN TE VOORKOMEN, WORDT AANGERADEN ÉÉN VAN DE VOLGENDE ADVIEZEN OP TE VOLGEN:

- WAS REGELMATIG DE HANDEN MET ZEEP, ZODAT ALLE PLANTENRESTEN VAN DE HANDEN WORDEN VERWIJDERD, OF
- WERK MET HANDSCHOENEN AAN EN VERWISSEL OF REINIG DEZE REGELMATIG

Het opvolgen van deze adviezen kan HVX-overdracht met name tijdens het sorteren verder reduceren !

Ga als volgt te werk:

#### Handen wassen

- Was de handen bij het wisselen van partijen en na elke pauze, maar bij voorkeur elk half uur.
- Maak gebruik van zeep uit een dispenser.  
Wrijf de zeep gedurende minimaal 10 seconde over de handen; wrijf ook de handpalm, rug van de hand, vingertoppen, duimen, de gebieden tussen de vingers en de polsen goed in. Maak vuile nagels schoon met een borsteltje en zeep. Zorg dat alle plantenresten van de handen verwijderd zijn !
- Spoel de zeep met veel water van de handen
- Droog de handen goed met een papieren handdoekje, ook tussen de vingers

#### Werken met handschoenen

##### *Bij gebruik van wegwerphandschoenen:*

- Was eerst de handen met zeep zoals hiervoor is beschreven
- Trek de handschoenen aan. Deze moeten een glad oppervlak hebben.
- Vervang de handschoenen in ieder geval bij het wisselen van partijen en na iedere pauze, maar bij voorkeur ieder uur. Vervang ook de handschoenen indien ze niet meer volledig gaaf zijn. Bij het verwisselen van de handschoenen eerst opnieuw de handen met zeep wassen.

##### *Bij gebruik van niet-wegwerphandschoenen:*

- Was eerst de handen met zeep zoals hiervoor is beschreven
- Trek de handschoenen aan. Deze moeten een glad oppervlak hebben.
- Was in ieder geval bij het wisselen van partijen en na iedere pauze, maar bij voorkeur ieder uur, de handschoenen (aan de handen) met zeep uit een dispenser zoals hiervoor is beschreven

#### En als laatste

- Werk met korte nagels
- Draag geen sieraden
- Voorkom het ontstaan van wondjes
- Maak geen gebruik van een mobiele telefoon tijdens het werk



## 4 De snelheid van aantoonbaarheid van HVX m.b.v. ELISA

### 4.1 Inleiding

In de praktijk blijkt van het ene op het andere jaar het viruspercentage binnen een partij soms (enorm) toe te nemen, ondanks genomen 'voorzorgsmaatregelen' (o.a. HVX-besmette partijen als laatste spoelen). Tevens bestond de vraag hoe snel na besmetting alle besmette planten m.b.v. ELISA aantoonbaar zijn. Naar aanleiding hiervan zijn planten die in het onderzoek van 2008 tijdens spoelen besmet raakten met HVX, in de zomer van 2009 nogmaals getoetst op HVX. Omdat het percentage (via ELISA) aantoonbare HVX-besmette planten in een deel van de veldjes in 2009 (aanzienlijk) hoger was dan in 2008, is besloten om in 2010, het derde jaar na besmetting, de planten nogmaals op HVX te toetsen.

### 4.2 Materiaal en methode

Eind februari 2008 zijn in een proef gezonde planten van de cultivars Gold Standard en Sum and Substance gespoeld samen met HVX-besmette planten. Half april 2008 zijn de planten van beide cultivars opgeplant op het veld en half augustus 2008 door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX. Van deze proef zijn per cultivar 6 veldjes van 80 planten nog 2 jaar blijven staan (zowel veldjes met geen of een gering aantal besmette planten, als veldjes met een hoger percentage besmette planten). Half juli 2009 en half juli 2010 zijn deze planten nogmaals door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX.

### 4.3 Resultaten

Zowel bij cultivar Gold Standard als bij cultivar Sum and Substance is het percentage HVX-besmette planten in het derde jaar na besmetting niet of nauwelijks toegenomen t.o.v. het percentage besmette planten in het tweede jaar na besmetting (zie Tabel 4 en Tabel 5)

*Tabel 5).*

*Tabel 4. Het verloop van de aantoonbaarheid van de HVX-besmetting gedurende 3 jaar na optreden van de besmetting bij cv. Gold Standard. Eind februari 2008 besmetting met HVX tijdens spoelen met HVX-besmette planten, april 2008 planting, augustus 2008, juli 2009 en juli 2010 toetsing aan blad m.b.v. ELISA.*

Proefveld	% planten met HVX-besmetting		
	2008 (1 <sup>e</sup> jaar)	2009 (2 <sup>e</sup> jaar)	2010 (3 <sup>e</sup> jaar)
1	0	0	0
2	5	10	11
3	0	0	0
4	1	6	11
5	5	18	21
6	16	24	21

Tabel 5. Het verloop van de aantoonbaarheid van de HVX-besmetting gedurende 3 jaar na optreden van de besmetting bij cv. *Sum and Substance*. Eind februari 2008 besmetting met HVX tijdens spoelen met HVX-besmette planten, april 2008 planting, augustus 2008, juli 2009 en juli 2010 toetsing aan blad m.b.v. ELISA.

Proef- veld	% planten met HVX-besmetting		
	2008 (1 <sup>e</sup> jaar)	2009 (2 <sup>e</sup> jaar)	2010 (3 <sup>e</sup> jaar)
7	0	0	0
8	12	1	0
9	0	0	0
10	7	43	46
11	21	25	28
12	5	41	40

## 4.4 Conclusies

In het eerste jaar na besmetting met HVX worden bij toetsing m.b.v. ELISA nog niet alle besmette planten aangetoond. Bij toetsing in het tweede jaar na besmetting zijn vrijwel alle besmette planten aantoonbaar.

## 5 Voorkomen van HVX-overdracht tijdens en na spoelen

### 5.1 Inleiding

Onderzoek bij PPO Bollen, Bomen en Fruit vanaf 2005 heeft uitgewezen dat het risico op overdracht van HVX tijdens spoelen vrij groot is. Uit onderzoek in 2008 is gebleken dat overdracht zowel via plantcontact binnen een partij plaatsvindt, als via spoelwater tussen partijen. Tevens werd duidelijk dat het percentage besmette planten gereduceerd kan worden door de planten na het spoelen gedurende 5 minuten te dompelen in 3% Middel A. Dompeling in 6% Middel A bleek fytoxisch te zijn.

In het hierna beschreven onderzoek is nogmaals de ontsmettende werking van dompeling in Middel A onderzocht, nu met een dosering van 3% en 4%. Tevens is de effectiviteit van dompelen in magere melk (3.5% melkeiwit) onderzocht. Bij een beperkt aantal behandelingen zijn de planten vóór, in plaats van na het spoelen gedompeld, om te onderzoeken of het mogelijk is om vóór spoelen het virus te inactiveren en/of los te weken van de plant.

### 5.2 Materiaal en methode

100 gezonde planten van de cultivar Sum and Substance zijn samen met 100 planten van een besmette partij van de cultivar Francee export-schoon gespoeld. De partij viruszieke Francee was aangekocht met een besmettingspercentage van 90% HVX. Echter, ELISA-analyse van planten aan de wortels door Naktuinbouw in januari (2010) liet een besmettingspercentage van 12% zien. Heranalyse van deze partij aan de wortels in februari (2010) met behulp van Agdia Immunostrips resulteerde in een besmettingspercentage van 43%.

De planten zijn export-schoon gespoeld bij een druk van 4 à 6 atmosfeer. Vlak vóór of vlak na spoelen zijn de planten gedompeld in water, in 3% of 4% Middel A of in magere melk (3.5% melkeiwit). Tijdens dompelen in Middel A is via meting van de pH gecontroleerd of de concentratie Middel A tijdens het dompelen op het juiste niveau bleef. De dompeltijd bedroeg 5 minuten, de uitlektijd tussen dompelen en spoelen 30 à 40 minuten en tussen spoelen en dompelen 15 à 30 minuten. De dompelproeven vóór het spoelen zijn uitsluitend bij Spoelbedrijf A uitgevoerd. De dompelproeven aansluitend op het spoelen zijn bij drie spoelbedrijven uitgevoerd.

Een deel van de planten is niet gespoeld én niet gedompeld, en een deel van de planten is wel gespoeld maar niet gedompeld (controle-behandelingen). De proef is begin februari 2010 uitgevoerd bij 3 verschillende spoelbedrijven. In Tabel 6 zijn de uitgevoerde behandelingen weergegeven.

Tabel 6. De uitgevoerde ontsmettings-behandelingen ter voorkoming van overdracht van HVX tijdens spoelen

Behandeling	Spoelen	Dompelen		Uitvoering behandeling <sup>1</sup>		
		Voor / na spoelen	Middel, dosering	Spoelbedrijf A	Spoelbedrijf B	Spoelbedrijf C
1	-	-	-	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
2	+	-	-	X	X	X
3	+	Voor	Water	X		
4	+	Voor	3% Middel A	X		
5	+	Voor	magere melk <sup>1</sup>	X		
6	+	Na	Water	X	X	X
7	+	Na	3% Middel A	X	X	X
8	+	Na	4% Middel A		X	X
9	+	Na	magere melk <sup>2</sup>	X	X	X

<sup>1</sup> X = behandeling bij betreffend spoelbedrijf uitgevoerd

<sup>2</sup> 3.5% melkeiwit

Na het spoelen hebben de planten 1 dag bij 5°C gestaan om uit te lekken. Vervolgens zijn de bakken ingeseald en tot verpakken bij 2°C bewaard. Vier dagen na spoelen zijn de planten verpakt in turfmoles en weggezet bij 2°C. Eind maart zijn de besmette planten van de cultivar Francee verwijderd. Half april 2010 zijn de planten opgeplant op het veld. Half augustus 2010 zijn de planten door Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX. Omdat onderzoek heeft uitgewezen dat toetsing in het tweede jaar na besmetting veel betrouwbaardere resultaten oplevert (zie Hoofdstuk 4), zijn de planten eind juli 2011, na nog een jaar vast gestaan te hebben op het veld, nogmaals door Naktuinbouw getoetst op HVX.

### 5.3 Resultaten en Discussie

Tijdens dompelen in 3% en 4% Middel A bleef de pH van de dompelveelstoffen op een waarde van 3 à 3.5. De hoeveelheid werkzame stof bleef tijdens het dompelen dus op het gewenste niveau.

In Tabel 7 is het percentage planten weergegeven dat na de verschillende spoel- en dompelbehandelingen besmet was met HVX in het 1<sup>e</sup> jaar en in het 2<sup>e</sup> jaar na spoelen.

#### Besmettingspercentage in het 1<sup>e</sup> jaar na spoelen

Als gevolg van het spoelen nam het percentage HVX-besmette planten toe tot resp. 9% (bedrijf A en C) en 20% (bedrijf B). Deze variatie in besmettingsniveau's is in het verleden vaker waargenomen (PT-project 12051). De variatie kan enerzijds veroorzaakt worden door de manier waarop ieder spoelbedrijf spoelt (type spoelmachine, waterdruk, lengte spoelband, etc). Anderzijds kan deze variatie in besmettingsniveau ook veroorzaakt worden door verschil in hoeveelheid HVX en zand die voorafgaand aan de spoelproef al in het spoelwater van elk van de spoelbedrijven aanwezig was. In PT-project 12051 is uitgebreid onderzoek gedaan naar het risico van virusoverdracht bij verschillende spoelbedrijven en verschillende manieren van spoelen.

Alleen bij bedrijf A is een deel van de planten gedompeld vóór het spoelen. Dompelen van de planten in water leidde tot een sterke toename van het besmettingspercentage, dompelen in 3% Middel A had geen effect op het besmettingspercentage en dompelen in magere melk leidde tot een afname van het besmettingspercentage.

Dompelen in water na spoelen had een wisselend effect op het besmettingspercentage: bij bedrijf A nam het besmettingspercentage sterk toe, bij bedrijf B nam het sterk af en bij bedrijf C had dompelen in water geen effect op het besmettingspercentage. Dompelen in Middel A na spoelen leidde bij alle bedrijven tot een (sterke) reductie van het besmettingspercentage. Bij bedrijf C werd overdracht van HVX zelfs volledig voorkomen. De concentratie van het middel had geen effect op de effectiviteit. Dompelen in

magere melk na spoelen had bij bedrijf A en C geen effect op het besmettingspercentage en leidde bij bedrijf B tot een afname van het besmettingspercentage.

Wanneer de resultaten van het dompelen aansluitend op het spoelen van de drie spoelbedrijven worden samengevoegd, dan blijkt dat dompeling in Middel A na het spoelen de HVX-overdracht efficiënt kan reduceren. Dompeling in magere melk na het spoelen kan de HVX-overdracht beperken, maar dit verschil is niet significant.

Dompelen in 3% of 4% Middel A of in magere melk heeft niet geleid tot fytoxische effecten. Dompeling in magere melk aansluitend op het spoelen heeft ook niet geleid tot zure of rottende melkresten op het gewas.

#### Besmettingspercentage in het 2<sup>e</sup> jaar na spoelen

In het 2<sup>e</sup> jaar was het besmettingspercentage bij alle behandelingen sterk toegenomen ten opzichte van het 1<sup>e</sup> jaar. Net als in het 1<sup>e</sup> jaar bleek dompelen in 3% of 4% Middel A na spoelen te leiden tot een sterke reductie van het percentage besmette planten. Dompelen in magere melk na spoelen en dompelen in magere melk of 3% Middel A voor spoelen waren minder of niet effectief.

Ook in het 2<sup>e</sup> jaar werden o.i.v. dompelen in 3% of 4% Middel A of in magere melk geen fytoxische effecten waargenomen.

*Tabel 7A en 7B. Het effect van dompelen in verschillende middelen vóór en na spoelen op het percentage HVX-besmette planten in het eerste en tweede jaar na spoelen, bij de cultivar Sum and Substance. Planten begin februari 2010 gespoeld samen met besmette planten, half april 2010 geplant en half augustus 2010 en eind juli 2011 getoetst aan blad.*

Beh. nr.	Spoelen	Dompelen		% planten HVX-besmetting			
		Voor / na spoelen	Middel, dosering	1 <sup>e</sup> jaar			gemiddelde (significante groep <sup>2</sup> )
				Spoel-bedrijf A	Spoel-bedrijf B	Spoel-bedrijf C	
1	-	-	n.v.t.	0			0 (a)
2	+	-	n.v.t.	9	20	10	13 (c)
3	+	Voor	Water	23	-	-	- <sup>3</sup>
4	+	Voor	3% Middel A	9	-	-	
5	+	Voor	magere melk <sup>1</sup>	4	-	-	
6	+	Na	Water	31	3	8	14 (c)
7	+	Na	3% Middel A	2	1	0	1 (ab)
8	+	Na	4% Middel A	-	1	0	1 (a)
9	+	Na	magere melk <sup>1</sup>	10	8	10	9 (bc)

Beh. nr.	Spoelen	Dompelen		% planten HVX-besmetting			
		Voor / na spoelen	Middel, dosering	2 <sup>e</sup> jaar			gemiddelde (significante groep <sup>2</sup> )
				Spoel-bedrijf A	Spoel-bedrijf B	Spoel-bedrijf C	
1	-	-	n.v.t.	0			0 (a)
2	+	-	n.v.t.	25	38	20	28 (b)
3	+	Voor	Water	49	-	-	- <sup>3</sup>
4	+	Voor	3% Middel A	36	-	-	
5	+	Voor	magere melk <sup>1</sup>	12	-	-	
6	+	Na	Water	50	10	21	27 (b)
7	+	Na	3% Middel A	4	3	1	3 (a)
8	+	Na	4% Middel A	-	2	0	1 (a)
9	+	Na	magere melk <sup>1</sup>	18	17	21	19 (b)

<sup>1</sup> 3.5% melkeiwit, <sup>2</sup> Toetsing m.b.v. volgens General Linear Models (GLM), <sup>3</sup> Berekening van gemiddelde is niet mogelijk



## 5.4 Conclusies

### Dompeling voor het spoelen

Dompeling van planten voor het spoelen in water vergroot het risico op virusoverdracht. Daarentegen lijkt dompeling van planten voor het spoelen in magere melk het risico op virusoverdracht enigszins te beperken.

### Dompeling na het spoelen

Door de planten na het spoelen gedurende 5 minuten te dompelen in 3% Middel A kan de overdracht van HVX als gevolg van spoelen aanzienlijk worden gereduceerd. Dompelen in magere melk na het spoelen kan de overdracht van HVX enigszins beperken.

## 6 Ontsmetten van spoelwater

Hosta-planten worden na het rooien met water gespoeld om overtollig zand te verwijderen. Voor reguliere bewaring is de aanwezigheid van restjes zand geen probleem en wordt er met relatief lage waterdruk gespoeld (kwekerijschoon spoelen). Voor export naar bijv. USA moet het plantmateriaal vrij zijn van zand en wordt er met relatief hoge waterdruk gespoeld (exportschoon spoelen). Juist tijdens het spoelen van Hosta-planten is het risico op virusverspreiding groot. In dit onderdeel van dit rapport worden mogelijkheden op een rij gezet waarmee water te ontsmetten is (met nadruk op virus) en wordt de toepasbaarheid voor gebruik bij spoelbedrijven getoetst.

Kenmerken van spoelmachines van drie betrokken spoelbedrijven:

Eigenschap	Spoelbedrijf		
	Molter	Warmerdam	Helmus
volume spoelwater voorraad (m <sup>3</sup> )	16	15.000	1.000
Doorstromingsnelheid spoelwater (kwekerijschoon) (m <sup>3</sup> /uur)	120	750 <sup>1)</sup>	300
Doorstromingsnelheid spoelwater (exportschoon) (m <sup>3</sup> /uur)	400	1500 <sup>1)</sup>	900

<sup>1)</sup> totaal wordt er 4.000 m<sup>3</sup> per uur gebruikt)

Er zijn diverse niet-chemische methoden om micro-organismen in water te inactiveren:

- Ozon
- Hoge druk UV
- Aquanox
- Ultrasoon geluid
- Hitte

Voor deze methoden zal geanalyseerd worden of toepassing voor desinfectie van spoelwater mogelijk en haalbaar is. Informatie is afkomstig uit zowel wetenschappelijke literatuur als informatie bij gespecialiseerde bedrijven.

### 6.1 Ozon

#### 6.1.1 Achtergrond

Ozon is een blauwachtig gekleurd gas dat beduidend sneller oxideert dan andere chemische producten. De desinfecterende werking van ozon wordt toegeschreven aan oxidatie (beschadiging) van micro-organismen. De werking geldt niet alleen voor bacteriën maar ook voor schimmels en virussen. Om deze redenen is ozon dan ook een uiterst effectief middel voor het behandelen van leidingwater en zwembadwater. Ozon is in staat om met tal van organische verbindingen te reageren, wat onder andere tot uiting kan komen in een kleurverbetering van het met ozon behandelde water.

Ozon is een drie-atomig (O<sub>3</sub>) zuurstofmolecuul dat wordt gemaakt door middel van zuivere zuurstof (O<sub>2</sub>). O<sub>3</sub> is een gas dat zwaarder is dan lucht. Ozon heeft een goede wateroplosbaarheid. Het is een labiele verbinding die snel uiteenvalt en vervolgens recombineert tot zuurstof indien er geen andere stoffen in de omgeving zijn waaraan het zich kan binden. Omdat water een heel scala aan verontreinigingen kent die soms nadelig zijn voor het doel waarvoor het water gebruikt wordt, is het belangrijk te weten dat een hele

reeks stoffen met ozon gebonden of opgesplitst kan worden.

### 6.1.2 Ozon als desinfectans

Ozon is uitstekend te gebruiken als desinfectiemiddel (waterontsmetter) tegen biologische vervuiling zoals microflora: schimmels, gisten, algen, virussen en bacteriën waaronder *Salmonella* en *Legionella*. Ozon is een dusdanig effectief biocide dat het ongeveer 3.000 maal sneller dan chloor deze microflora doodt en vervolgens slechts O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O achterlaat. Zelfs de gevaarlijkste virussen en bacteriën worden snel geëlimineerd.

De werking van ozon op bacteriën verschilt van die van chloor. Het beschadigt (scheurt) de celwand van de bacterie terwijl chloor door de celwand heen dringt en dan een aanval op enzymen doet. Virussen zijn zeer kleine deeltjes, opgebouwd uit macromoleculen van eiwit en erfelijk materiaal. In tegenstelling tot bacteriën, vermenigvuldigen ze zich alleen binnen de gastheercel. Bij lagere concentraties ozon wordt uitsluitend het erfelijk materiaal van het virus beschadigd. Bij hogere concentraties beschadigt ozon ook de beschermende buitenkant van het virus.

Om water met ozon te kunnen desinfecteren of oxideren, zal de ozon hierin moeten worden opgelost. Het oplossen van ozongas dat door de ozogenerator ter plekke wordt geproduceerd kan op verschillende manieren. Belangrijk voor een goede desinfectie en oxidatie is dat de ozonconcentratie in het water zo hoog mogelijk is. De voorspelling van de oplosbaarheid is gecompliceerder dan bij andere gassen, omdat bij ozon de oplosbaarheid wordt beïnvloed door meerdere factoren zoals temperatuur, pH en opgeloste stoffen. Dit heeft gevolgen voor de instabiliteit van ozon in water.

Ozon kan op verschillende manieren in water ingebracht worden. De meest gebruikte methoden zijn d.m.v. een *diffuser* of een *venturi*. Een *diffuser* bestaat meestal uit een schijf of een stang en werkt met overdruk waardoor een bellenkolom ontstaat. Voordelen van een *diffuser* systeem zijn hoog rendement, eenvoudige constructie en zeer geschikt voor grote watervolumes. Nadelen zijn dat het geen compact systeem is en efficiency is afhankelijk van diepte van de contactkolom en grootte van de bel. Bovendien kan de *diffuser* verstopt raken, waardoor de efficiency afneemt.

Bij een *venturi* wordt het ozongas door middel van onderdruk in het water opgelost. De onderdruk staat door een vernauwing in de vloeistofstroom te creëren waardoor er ozon wordt aangezogen. De voordelen van een *venturi* zijn een compacte installatie, geen bewegende delen en hoog rendement (tot 90%).

Het effect van ozon onder een bepaalde kritieke concentratie is klein of nul. Boven dit niveau worden ziekteverwekkers vernietigd. Dit effect is een alles-of-niets reactie en de effectiviteit is afhankelijk van de "drempelwaarde". Elke organisme heeft daarbij een eigen drempelwaarde. Helaas is er voor plantenvirussen geen informatie beschikbaar over kritieke concentraties en drempelwaarden. Daarnaast is de effectiviteit afhankelijk van de aanwezigheid van andere organische vervuiling in het water. Virusdeeltjes vrij in water zullen daarbij eenvoudiger te inactiveren zijn dan virusdeeltjes aanwezig in plantmateriaal.

Vanwege het specialistische karakter van desinfectie met behulp van ozon, wordt geadviseerd contact op te nemen met gespecialiseerde bedrijven zoals:

- Agrozone <http://www.agrozone.nl/>
- Excellent Ozone Systems & Consultants BV [www.excellentozone.nl](http://www.excellentozone.nl/)
- Lennotech [www.lennotech.nl](http://www.lennotech.nl/)

Zij kunnen in meer detail advies geven over de haalbaarheid van desinfectie van spoelwater met behulp van ozon.

### 6.1.3 Toxiciteit van ozon

Bij hogere concentraties is ozon na inhalatie schadelijk voor de gezondheid. Klachten als irritatie van de slijmvliezen en hoofdpijn zijn hiervan het gevolg. Lange termijn effecten zijn nog niet geheel bekend, maar er moet rekening gehouden worden met achteruitgang van de longcapaciteit en longgerelateerde ziekten. Om

bovenstaande risico's te vermijden is er voor ruimtes waar met ozon wordt gewerkt een maximaal toelaatbare concentratie vastgesteld (MAC-waarde). Houdt daarom bij toepassing van ozon als desinfectans rekening met de toxiciteit van ozon.

## 6.2 Ultraviolet licht

### 6.2.1 Achtergrond

Sinds lange tijd is bekend dat ultraviolet licht een desinfecterende werking op micro-organismen heeft. De specifieke golflengten die verantwoordelijk zijn voor deze reactie liggen tussen de 240-280 nanometer met een piek op 265 nm. Dit type licht staat bekend als UV-C.

Wanneer een micro-organisme wordt blootgesteld aan UV-C, beschadigt het genetische materiaal als gevolg van fotolytische processen waardoor verdere vermeerdering of functioneren van cellen niet meer mogelijk is.

De ultraviolet lichtbron is een zogenaamde *fused silica* kwarts buis, meestal met een diameter van 15mm tot 25mm en variërend van 100mm-1200mm lang. Een lage druk UV-lamp is geschikt voor het produceren UV-licht van 185nm en 254 nm met een beperkt vermogen (15W tot 200W). Daarentegen hebben medium- en hoge druk UV-C lampen betere prestaties:

- Vermogen van 0.4kW tot 7.0kW resulteert in een behandeling van water tot een maximum capaciteit van 600 m<sup>3</sup> per uur met een enkele lamp.
- Het brede spectrum (185 tot 480 nm) presteert efficiënter dan lage druk lampen op vloeistofstromen van >13 m<sup>3</sup>/uur
- Levensduur van een hoge-druk UV-C lamp: 4000 - 8000 uur (afhankelijk van bedrijfsomstandigheden).

De UV dosis is het product van de UV-intensiteit (uitgedrukt als energie per eenheid oppervlakte) en de tijdsduur. Dit wordt meestal uitgedrukt als 1mJ/cm<sup>2</sup> = 1000 Watt micro second/cm<sup>2</sup>. De dosis die nodig is voor het bestrijden van bacteriën, schimmels en virussen varieert tussen organismen, maar is ook sterk afhankelijk van de waterkwaliteit en vertroebeling. Voor inactivatie van virussen is in het algemeen een hogere UV-dosis nodig dan voor het inactiveren van schimmels en bacteriën. Voordelen van UV-C zijn:

- UV heeft geen toevoeging van chemicaliën
- UV voegt geen giftige bijproducten aan het water toe
- UV systemen zijn compact en eenvoudig te installeren
- UV systemen hebben weinig onderhoud nodig
- Energiekosten zijn vaak lager dan die van een gloeilamp

### 6.2.2 Beschikbaar apparaat

Toepassing van UV-C in het desinfecteren van spoelwater kan via een doorstroomunit of een onderwaterunit.



Onderwaterunit  
Bioclimatic



Onderwaterunit  
Bioclimatic



Doorstroomunit  
Bioclimatic

De technische mogelijkheden zijn aanwezig om grote hoeveelheden water m.b.v. een doorstroomunit volledig te desinfecteren (in het geval van helder water zelfs tot 600m<sup>3</sup>/uur). Daarentegen is het als toepassing bij spoelbedrijven waarschijnlijk al voldoende om door middel van UV-C de virusconcentratie in het spoelwater laag te houden zodat het risico op virusverspreiding minimaal is. Een onderwaterunit die 24 uur per dag operationeel is, zou hierbij mogelijk voldoende zijn. Het vermogen van de unit en de technische opstelling in het spoelwaterreservoir zijn zaken die in gesprek met een leverancier verder besproken moet worden.

Vanwege het specialistische karakter van desinfectie met behulp van UV-C, wordt geadviseerd contact op te nemen met gespecialiseerde bedrijven zoals:

- Agrozone <http://www.agrozone.nl/>
- Bioclimatic [www.bioclimatic.nl](http://www.bioclimatic.nl)
- Lenntech [www.lenntech.nl](http://www.lenntech.nl)

Zij kunnen in meer detail advies geven over de haalbaarheid van desinfectie van spoelwater met behulp van UV-C. Een aantal bedrijven kan ook een combinatie van desinfectie met UV-C en ozon aanbieden.

## 6.3 Aquanox<sup>®</sup>

### 6.3.1 Achtergrond

Aquanox<sup>®</sup> van AcraZen ([www.arcazen.nl](http://www.arcazen.nl)) is een elektrochemisch geactiveerde oplossing van onthard leidingwater en keukenzout die bacteriën, virussen, algen en schimmels op een milieuvriendelijke manier zou kunnen doden. Achtergrondstudies die deze werkwijze bevestigen konden echter niet gevonden worden. De biocide capaciteit zou ongeveer vijf maal zo groot zijn als die van chloor, waardoor Aquanox<sup>®</sup> micro-organismen volledig zou kunnen afdoden.

Waar veel chemische reinigingsmiddelen ziektekiemen non-actief maken, zou Aquanox<sup>®</sup> deze ziektekiemen permanent onschadelijk maken door 'verbranding'. Aquanox<sup>®</sup> kan worden toegepast voor het reinigen van onder andere cellen, fust, bloemen, bollen en water. Een andere benaming voor Aquanox<sup>®</sup> is Anolyte Water.

### 6.3.2 Toepassing

Een Aquanox<sup>®</sup> oplossing is een behandelde samenstelling van onthard leidingwater en keukenzout. Deze oplossing is het werkzame middel van het product. Gezien de grote hoeveelheid te behandelen water is toepassing van Aquanox<sup>®</sup> niet haalbaar.

## 6.4 Ultrasoon geluid

AcraZen ([www.arcazen.nl](http://www.arcazen.nl)) en Luykx Ultrasound ([www.algastop.nl](http://www.algastop.nl)) geven aan dat met het gebruik van geluidsgolven bacteriën, schimmels, algen, aaltjes en mijten voorgoed onschadelijk gemaakt kunnen worden. In een kleinschalig experiment heeft Luykx Ultrasound aangetoond dat komkommerbontvirus met behulp van ultrasoon geluid onschadelijk gemaakt kan worden. Ultrasoon geluid wordt echter in de praktijk niet als zodanig toegepast bij het desinfecteren van micro-organismen in drinkwater, zwemwater of voedingsmiddelen. Daarom is de waarde van deze toepassing niet duidelijk.

Deze toepassing van ultrasoon geluid wordt door AcraZen onder de naam BulbSweep aangeboden. BulbSweep kan gebruikt worden in spoelmachines, bassins en andere agrarische watertoepassingen. Het product werkt zeer eenvoudig en is onderhoudsvrij.

## 6.5 Hitte

De meeste potexvirussen verliezen hun besmettelijkheid wanneer deze voor minimaal 10 minuten worden blootgesteld aan 70°C. HVX kan al bij 65°C worden geïnactiveerd (minimaal 7 minuten verhitting, §2.3) Verhitting van het spoelwater tot minimaal 65°C zou een toepassing kunnen zijn voor het inactiveren van HVX. Gezien het grote volume van de spoelwatervoorraad, en de schadelijkheid van verhit spoelwater op het gewas, is verhitting van het spoelwater geen optie om toe te passen bij het desinfecteren van spoelwater.

## 6.6 Conclusie

Op basis van beschikbare informatie van diverse systemen voor het ontsmetten/desinfecteren van spoelwater lijkt toepassing van UV-C op dit moment de beste kansen te hebben, zeker voor recirculatiestromen met een kleine inhoud. Toepassing van UV-C vraagt om relatief lage investeringskosten, heeft relatief lage gebruikskosten en, afhankelijk van de technische details, kan de ontsmettingseffectiviteit ruim voldoende zijn. Mede hierdoor wordt UV-C inmiddels in de glastuinbouw al in diverse (recirculatie)systemen toegepast ter bestrijding van bacteriën en schimmels. Eventueel kan de werking van UV-C aangevuld worden door toepassing van ozon in het spoelwater. Dit kan echter alleen bij niet te grote volumes spoelwater. Diverse bedrijven hebben ervaring met een geïntegreerde toepassing van beide systemen. Voor een goed advies met betrekking tot de mogelijkheden, onderbouwing en economische haalbaarheid zijn er een aantal bedrijfspecifieke gegevens nodig. Deze gegevens bestaan uit

- Uitgebreide wateranalyse (chemische CZV, .BOD.PH, ijzer, zwevend stof enz/ bact.) van spoelwater waarvan bekend is hoelang het water er in heeft gezeten en hoeveel product er in heeft gezeten.
- Wateranalyse spoelwater (chemisch)
- Geeft het te spoelen plantmateriaal verontreiniging van het water door uitscheiding van stoffen of verkleuring van het water?
- P&ID van het proces
- Welke filters worden er nu gebruikt

Een inventarisatie op locatie zou natuurlijk het best zijn.

Door ontsmetting van het water kan in ieder geval de virusbesmetting vanuit het water (en dus virusverspreiding tussen partijen) voorkomen worden. Toepassing van UV-C voor het voorkomen van virusverspreiding binnen een partij tijdens het spoelproces lijkt niet haalbaar. Er is te veel schaduwwerking door het plantgoed voor toepassing van UV-C. De toepassing van ozon in het spoelwater kan mogelijk ook virusverspreiding tijdens het spoelen voorkomen.

### ***Disclaimer***

Door middel van een zoekopdracht op het internet zijn voor diverse toepassingen verschillende bedrijven gevonden. Er wordt geen voorkeur voor een bedrijf uitgesproken. Ook is het mogelijk dat tijdens de zoekopdracht bedrijven niet gevonden zijn en dus niet genoemd worden in dit document. Hiervoor is geen opzet in het spel en er is geen aansprakelijkheid.



## 7 Voorkomen van HVX-overdracht tijdens snijden

### 7.1 Inleiding

Onderzoek bij PPO Bollen, Bomen en Fruit vanaf 2005 heeft uitgewezen dat tijdens snijden (sorteren) een geringe kans bestaat op overdracht van HVX via het mes. Vanuit dit onderzoek zijn er tevens aanwijzingen dat ontsmetting van het mes d.m.v. verhitting of dompelen van het mes in Middel B of magere melk (3.5% melkeiwit), overdracht van HVX tijdens het snijden kan worden voorkomen. Door de geringe mate van virusoverdracht in de niet ontsmette controle-behandeling konden er echter geen betrouwbare conclusies worden getrokken.

In het hierna beschreven onderzoek zijn genoemde methodes van mes-ontsmetting tijdens snijden opnieuw onderzocht. Tevens is dompeling van het mes in het middel Middel A getest omdat in het speel-onderzoek het dompelen van de planten in 3% Middel A HVX-overdracht aanzienlijk werd gereduceerd.

### 7.2 Materiaal en methode

Eind maart zijn gezonde planten gesneden met een mes dat gedompeld was in plantensap van besmette Hosta-planten (cv. Francee). Vier methodes ter ontsmetting van het besmette mes zijn uitgetest: 1 minuut dompelen in 3% Middel A, 1 minuut dompelen in 1% Middel B, 10 seconde dompelen in magere melk (3.5% melkeiwit) en 10 seconde verhitten van het mes bij 250°. Tevens is er een behandeling uitgevoerd waarbij geen ontsmettende behandeling werd uitgevoerd (controle-behandeling). In Tabel 8 zijn de verschillende ontsmettingsbehandelingen weergegeven. Na besmetten van het mes en dompelen of verhitten, zijn achtereenvolgens de navelstreng doorgesneden, de wortels ingekort en is de plant door de neus overlans in tweeën gesneden. Per behandeling zijn 70 planten geneden.

Half april 2010 zijn beide helften van de gesneden planten opgeplant op het veld. Half augustus 2010 zijn de planten door de Naktuinbouw m.b.v. ELISA aan het blad getoetst op HVX. Omdat onderzoek heeft uitgewezen dat toetsing in het tweede jaar na besmetting veel betrouwbaardere resultaten oplevert (zie Hoofdstuk 4), zijn de planten eind juli 2011, na nog een jaar vast gestaan te hebben op het veld, nogmaals door Naktuinbouw getoetst op HVX.

*Tabel 8. De uitgevoerde mesontsmettings-behandelingen ter voorkoming van overdracht van HVX tijdens snijden*

Beh. nr.	Mesontsmetting	Duur ontsmetting
1	-	-
2	3% Middel A	1 minuut
3	1% Middel B	1 minuut
4	magere melk <sup>1</sup>	10 sec
5	Verhit mes, 250°C	10 sec

<sup>1</sup> 3.5% melkeiwit



## 7.3 Resultaten

Het snijden met een mes dat gedompeld was in besmet plantensap leidde tot een besmettingspercentage van 4 à 6% (zie Tabel 9). Overdracht van HVX werd volledig voorkomen wanneer het besmette mes vóór snijden 1 minuut was gedompeld in 3% Middel A, 1 minuut in 1% Middel B of 10 seconde in magere melk. Ook het verhitten van het mes gedurende 10 seconde bij 250°C was effectief om HVX-overdracht volledig te voorkomen.

Dompelen van het mes in 3% Middel A, 1% Middel B of magere melk leidde niet tot fytoxische effecten.

*Tabel 9. Het effect van verschillende methoden van mesontsmetting tijdens het snijden op het percentage besmetting met HVX in het 1<sup>e</sup> jaar en het 2<sup>e</sup> jaar na snijden, bij de cultivar Sum and Substance. Planten eind maart 2010 gesneden met een besmet mes, half april 2010 geplant en half augustus 2010 en eind juli 2011 getoetst aan blad.*

Beh. nr	Mesontsmetting	Duur ontsmetting	% planten HVX-besmetting	
			1e jaar	2e jaar
1	-	-	6	4
2	3% Middel A	1 minuut	0	0
3	1% Middel B	1 minuut	0	0
4	magere melk <sup>2</sup>	10 sec	0	0
5	Verhit mes, 250°C	10 sec	0	0

<sup>1</sup> 3.5% melkeiwit

## 7.4 Conclusies

Door tijdens het snijden het mes 1 minuut te dompelen in 3% Middel A, 1 minuut in 1% Middel B of 10 seconde in magere melk, óf door het mes 10 seconde te verhitten bij 250°C kan overdracht van HVX volledig worden voorkomen.

## 8 Potentiële biologisch vectoren van potexvirussen

Er zijn ruim 50 potexvirussen bekend (

Bijlage – 1). Potexvirussen worden altijd via mechanische wijze (beschadiging/verwonding) verspreid. Ook vindt er verspreiding van potexvirussen plaats via generatieve vermeerdering, oculeren, of enten. Voor slechts een paar potexvirussen is virusverspreiding via bladluizen beschreven; voor de meeste andere potexvirussen is dit uitgesloten. Verspreiding van een potexvirus door bladluizen is dus uitzonderlijk. Typisch voor de verspreiding van enkele specifieke potexvirussen door bladluizen is dat slechts één of enkele bladluissoorten desbetreffend potexvirus kunnen verspreiden. In enkele gevallen is tevens een tweede helpervirus noodzakelijk. Voor HVX is verspreiding via bladluizen in ieder geval niet eerder aangetoond en op basis van ervaring uit de praktijk niet aannemelijk.

Verspreiding van potexvirussen via mijten is voor enkele virussen aangetoond. Tulpengalmijt en stromijten zijn geen plaagorganismen bij Hosta. Er wordt daarom niet verwacht dat mijten een rol spelen bij de verspreiding van HVX,

Recent is aangetoond dat er TVX-verspreiding kan optreden wanneer gezonde tulpen worden geteeld op grond waardoorheen TVX-geïnfecteerd bladmateriaal is gefreesd (Bloembollennisie 198, p41). Of bij deze virusinfectie vanuit de grond een vector betrokken is (zoals een nematode of schimmel), is vooralsnog onduidelijk. Voor PepMV is aangetoond dat verspreiding kan plaatsvinden via een grondgebonden schimmel. Virusverspreiding via een grondgebonden vector wordt gekarakteriseerd door het ontstaan van een lokale plek met infecties. Vanuit alle ervaring met HVX van de afgelopen jaren opgedaan, zijn er geen aanwijzingen dat dergelijke plekken met infecties zijn waargenomen. Verspreiding van HVX via nematoden of een bodemschimmel is daarom niet aannemelijk.

Veldjes 1 en 3 van zowel Tabel 4 als Tabel 5 bestonden uit virusvrije Hosta's die 3 jaar lang geteeld zijn naast hosta's met aanzienlijke percentages HVX (veldjes 4, 5 en 6). Gedurende de 3-jarige teelt is er geen gewasbescherming toegepast welke gericht is op bladluizen of andere virusvectoren. Mocht er HVX-verspreiding in de praktijk plaatsvinden via een biologische vector, of via gewasresten op/in de grond, of via wortelcontact tussen planten, dan wordt verwacht dat dit in deze 3-jarige opplant zonder gewasbescherming waargenomen was. Echter, veldjes 1 en 3 zijn virusvrij gebleven.

Op basis van zowel deze experimentele analyse als het literatuuronderzoek is het niet aannemelijk dat er een biologische vector betrokken is bij de verspreiding van HVX.



## 9 Conclusies en implementatie

Dit onderzoeksproject heeft enerzijds nieuwe kennis over HVX opgeleverd. Anderzijds is ook aangetoond dat er maatregelen zijn om verspreiding van HVX te beperken of zelfs te voorkomen:

### Stabiliteit HVX

HVX blijkt bij 20°C tot 1.5 à 2 maanden buiten de plant aantoonbaar te zijn. Bij lagere temperaturen is HVX nog langer stabiel. HVX is tot ±55 à 60°C stabiel, maar kan geïnactiveerd/bestreden worden door verhitting bij 65°C gedurende minimaal 7 minuten. Deze kennis moet enerzijds toegepast worden bij het inschatten en toepassen van de juiste bedrijfshygiënische maatregelen en het reinigen van werkoppervlakten, spoelwater, fusten, gereedschap etc. Anderzijds is deze kennis ook belangrijk voor het composteren van plantaardig materiaal dat besmet kan zijn met virussen als HVX.

### De snelheid van aantoonbaarheid van HVX m.b.v. ELISA

In het eerste jaar na infectie met HVX zal slechts een gedeelte van de geïnfecteerde planten met ELISA gedetecteerd kunnen worden. Pas in het tweede jaar na infectie is het percentage HVX met ELISA betrouwbaar te bepalen.

### Voorkomen van HVX-overdracht tijdens en na spoelen

Dompeling van de planten in magere melk vóór het spoelen kan de mate van verspreiding tijdens het spoelen enigszins beperken. Overdracht van HVX tijdens het spoelen lijkt daarentegen effectief bestreden te kunnen worden door dompeling van planten na het spoelen in minimaal 3% Middel A. Dompeling in magere melk na het spoelen lijkt de overdracht enigszins te kunnen beperken. Helaas is er geen registratie voor dompeling van plantmateriaal in Middel A. Een vergelijkbare registratie is zo ver als bekend niet noodzakelijk voor het dompelen in magere melk.

### Effectieve reiniging van handen

HVX blijkt in hoge concentraties voor te komen op de buitenkant van wortels. Handen kunnen hierdoor eenvoudig bevuild worden met HVX. In het rapport is een overzicht van reinigingsmiddelen voor handen beschreven. Tevens zijn er instructies opgenomen voor effectief wassen van handen en aanvullende adviezen ter voorkoming van overdracht via de handen.

### Ontsmetten van spoelwater

Er is een literatuurstudie gedaan naar mogelijkheden om virusbesmet spoelwater te ontsmetten. Toepassing van ozon en ultraviolet (UV) licht en hitte zijn het meest effectief. Voor toepassing van Aquanox, NOW water, Anolyte en Utrasoon geluid is in de literatuur geen overtuigend bewijs gevonden. Het is momenteel nog onduidelijk in hoeverre mechanismen als ozon en UV-licht kostenefficiënt toe te passen zijn in een spoelbedrijf.

### Voorkomen van HVX-overdracht tijdens snijden

Overdracht van HVX kan effectief voorkomen worden door het mes tussentijds te dompelen in middelen als Middel A, Middel B of magere melk. Tevens is verhitting van het mes effectief.

### Potentiële biologische vectoren van HVX

Op basis van een literatuurstudie zijn er geen aanwijzingen gevonden dat er biologische vectoren betrokken kunnen zijn bij de verspreiding van HVX. Vanuit praktijkgericht onderzoek zijn er ook nog steeds geen signalen dat HVX via een biologische vector verspreid kan worden.



## Bijlage – 1

### ***Overzicht van stabiliteit van Potexvirussen uitgedrukt in drie fysische eigenschappen verspreiding via biologische vectoren***

**Note:** voor alle potexvirussen geldt dat mechanische verspreiding via verwonding of beschadiging en via enten/oculeren/stekken mogelijk is.

<b>Virus (echte potexvirussen)</b>	<b>DEP (log)<sup>1)</sup></b>	<b>LIV (dagen)<sup>2)</sup></b>	<b>TIP (°C)<sup>3)</sup></b>	<b>Verspreiding via biologisch vector</b>
Asparagus 3 virus	4	23	60	
Cactus X virus	5	28	82	
Cassava X virus				
Chicory X virus	6-7	15	55-60	
Clover yellow mosaic virus	5	188	60-65	
Commelina X virus				
Cymbidium mosaic virus	6-7	25	60-70	
Daphne X virus	5	35	80	
Foxtail mosaic virus	7	46	70	
Hydrangea ringspot virus	5	14-21	70-75	
Lily X virus				
Narcissus mosaic virus	6	85	75	
Nerine X virus	7	365	95-100	
Papaya mosaic virus	4	180	73-76	
Pepino mosaic virus	5-6	>90	65-70	via <i>Oplidium virulentus</i> (een grondgebonden schimmel) en via pollen (verspreidt door bijen/hommels)
Plantago asiatica mosaic virus				
Plantain X virus			60-70	
Potato aucuba mosaic virus	5-6	30-60	65-70	via bladluizen ( <i>Myzus persicae</i> ) op een non-persistente wijze. Virus heeft een helpervirus nodig voor verspreiding (bijv. een potyvirus, zoals aardappelvirus A en -Y)
Potato X virus	5-6	40-60	68-76	
Tulip X virus	9	30	60-65	via tulpengalmijt ( <i>Aceria tulipae</i> ) en stromijt ( <i>Tyropaghus</i> spp.)
Viola mottle virus	9-10	240	95	
White clover mosaic virus	4-5	10-99	60	

<sup>1)</sup> dilution end point of the infectivity of sap (log) – verdunningspunt waarop het sap z'n besmettelijkheid verliest (log schaal, 1=10x verdunnen, 2=100x verdunnen, 3=1.000x verdunnen, enz.)

<sup>2)</sup> longevity of the infectivity of sap *in vitro* (days) - levensduur van de besmettelijkheid van plantensap (in dagen)

<sup>3)</sup> TIP: thermal inactivation point (°C) ; lowest temperature at which infectivity of sap is destroyed in 10 min - thermische inactivatie punt (° C); laagste temperatuur waarbij besmettelijkheid van sap wordt vernietigd in 10 minuten

<b>Virus (waarschijnlijke potexvirussen)</b>	<b>DEP (log)<sup>1)</sup></b>	<b>LIV (dagen)<sup>2)</sup></b>	<b>TIP (°C)<sup>3)</sup></b>	<b>Verspreiding via biologisch vector</b>
Allium virus X				
Artichoke curly dwarf virus	3-4	2-3	55-60	

Bamboo mosaic virus	5-6		65-70	
Burdock yellow mosaic virus	6	91	58	
Cassava Caribbean mosaic virus				
Cassava Colombian symptomless virus				
Cassava common mosaic virus	5-6	128	60-70	
Centrosema mosaic virus	3-4	¼	55-58	via <i>Lygaeidae</i> and <i>Nysius</i> spp (wants-soorten) op een non-persistente manier
Clitoria mosaic virus	3-4	¾	70	
Crotalaria spectabilis yellow mosaic virus	3-4	1-2	55-60	Via bladluizen (met name <i>Myzus persicae</i> ) op een non-persistente wijze
Dioscorea latent virus	6	365	75-80	
Groundnut chlorotic spot virus	5-6	5	55-60	Via bladluizen (met name <i>Aphis craccivora</i> en <i>A. spiraeicola</i> ) op een non-persistente wijze;
<i>Hosta virus X</i>				
Impatiens latent virus		21-28	68-72	
Lychnis virus	6		70-75	
Malva veinal necrosis virus				
Nandina mosaic virus				
Negro coffee mosaic virus				Via bladluizen (met name <i>Aphis solanella</i> ) op een non-persistente wijze
Onion mite-borne latent virus				via mijten ( <i>Aceria tulipae</i> , tulpengalmijt)
Parsley 5 virus				Via bladluizen (met name <i>Cavariella aegopodii</i> ) op een non-persistente wijze
Parsnip 3 virus				
Rehmannia X virus				
Rhododendron necrotic ringspot virus				
Rhubarb 1 virus				
Shallot mite-borne latent virus				via mijten ( <i>Aceria tulipae</i> , tulpengalmijt)
Sieg River virus				
Silene X virus				
Smithiantha virus				
Sonchus mosaic virus				Via bladluizen (met name <i>Myzus persicae</i> ) op een non-persistente wijze
Strawberry mild yellow edge-associated virus				Via bladluizen (met name <i>Chaetosiphon fragaraefolii</i> ) op een non-persistente wijze. Virus heeft een helpervirus nodig voor verspreiding (bijv. een potyvirus, zoals strawberry mild yellow edge luteovirus)
Tamus latent virus				
Zygocactus Montana X virus	5-6	6-7	75-80	
Zygocactus virus			72-74	

<sup>1)</sup> dilution end point of the infectivity of sap (log) – verdunningspunt waarop het sap z'n besmettelijkheid verliest (log schaal, 1=10x verdunnen, 2=100x verdunnen, 3=1.000x verdunnen, enz.)

<sup>2)</sup> longevity of the infectivity of sap *in vitro* (days) - levensduur van de besmettelijkheid van plantensap (in dagen)

<sup>3)</sup> TIP: thermal inactivation point (°C) ; lowest temperature at which infectivity of sap is destroyed in 10 min - thermische inactivatie punt (° C); laagste temperatuur waarbij besmettelijkheid van sap wordt vernietigd in 10 minuten