

*“Xylella fastidiosa_
Linee Guida_Prelievo e
campionamento in aree indenni.
Modifiche articolo 9.8 della Decisione (UE)
789/2015 relativa alle misure
per Xylella fastidiosa”
REV 2
17 gennaio 2018*

*A cura di
Stefano Endrizzi/Domenico Rizzo/Annarosa Babini/Giuliano Stimilli*

Indice

Indice.....	2
Introduzione	3
2. Modalità di prelievo e di ispezione del materiale vegetale	3
2.1 Modalità di prelievo dei campioni vegetali	3
Olea europea (Olivo).....	4
Prunus dulcis (Mandorlo)	4
Nerium Oleander (Oleandro)	5
Polygala mirtifolia.....	5
Coffea spp (Caffè).....	5
Lavandula dentata	5
2.2 Piante asintomatiche.....	6
2.3 Piante sintomatiche	7
3. Periodo e modalità di campionamento:.....	7
4. Analisi di laboratorio:	8
5. Costi:.....	8
6. Bibliografia di riferimento	8

Introduzione

Procedura per le ispezioni ufficiali, campionamento e modalità di prelievo nei vivai ai sensi dell'articolo 9.8 della Decisione (UE) 789/2015 relativa alle misure per *Xylella fastidiosa*.

All'articolo 9, relativo alla movimentazione delle piante specificate nell'Unione, il nuovo comma 8 introduce controlli rafforzati per 6 specie ospiti (*Coffea*, *Lavandula dentata*, *Nerium oleander*, *Olea europaea*, *Polygala myrtifolia* e *Prunus dulcis*), risultate maggiormente sensibili alle varie sottospecie europee di *Xylella fastidiosa*.

I centri aziendali (con i relativi siti di produzione)_situati in area indenne che coltivano dette specie devono essere sottoposti a una ispezione ufficiale annuale che prevede l'esame visivo, il campionamento e l'analisi delle produzioni presenti, utilizzando uno schema di campionamento capace di identificare con un'affidabilità del 99% un livello di presenza di piante infette del 5% (ISPM 31). A tale scopo, per le analisi, possono essere utilizzati anche saggi non molecolari.

Tale disposizione avrà un'applicazione differita al 1° marzo 2018 al fine di consentire la programmazione delle necessarie ispezioni nei siti di produzione nazionali.

A tal fine i SFR trasmetteranno secondo le modalità da essi stabilite ai soggetti autorizzati, che producono le specie di cui sopra, la Tabella riportata in allegato al presente documento (*allegato excel foglio: per azienda da compilare*). I soggetti già autorizzati all'uso del Passaporto delle piante per le 6 specie di cui sopra dovranno compilare e ritrasmettere la tabella di cui sopra ai SFR **entro il 01 marzo 2018**, o comunque in occasione della trasmissione della dichiarazione annuale della lista delle piante coltivate (ai sensi dell'art.21 comma 1 n-bis) del D.lgs 214/2005 e ss.mm).

Sulla base dei dati riportati i SFR predisporranno per singolo centro aziendale il numero dei campioni e programmeranno la relativa attività di campionamento e analisi (*allegato excel foglio: SFR campioni&analisi*).

Al fine di agevolare le procedure di controllo derivanti dalle suddette disposizioni sul passaporto delle piante per gli operatori situati in area indenne, si propongono le relative procedure operative.

2. Modalità di prelievo e di ispezione del materiale vegetale

La pianificazione delle attività di ispezione deve riguardare in primo luogo (per ciascun vivaio iscritto al RUP con emissione di passaporto) l'individuazione dei centri aziendali con produzione di una o più specie tra quelle previste dalla modifica dell'art. 9.8 della Decisione UE 789/2015 e della relativa consistenza numerica complessiva. Le modalità ispettive devono tenere conto delle indicazioni previste dalla ISPM n. 31 – *Methodologies for sampling of consignment*, in particolare alla tabella relativa alla definizione dell'intensità di campionamento individuando un intervallo di confidenza di 99%, e limitando al 5% di probabilità di avere una infezione riconducibile a *Xylella fastidiosa*.

2.1 Modalità di prelievo dei campioni vegetali

La *X. fastidiosa* si localizza nel tessuto xilematico degli ospiti, sul picciolo, e la nervatura centrale della foglia.


- I campioni devono essere formati da rami tagliati con attaccate le foglie.

- Per piante piccole può venir inviata in laboratorio l'intera piantina o parti di piante.
 - Per piante con foglie sclerotiche (ad esempio *Coffea*), possono venir campionati i piccioli.
- In relazione all'elevato numero di campioni potenzialmente oggetto di prelievo, sono utilizzati campioni pool per ciascuna specie vegetale ospite di *Xylella fastidiosa* oggetto della seguente procedura.


Nel caso di piante asintomatiche si effettua il prelievo di campioni pool. La predisposizione di quest'ultimi può avvenire a livello di foglie o di germogli\rametti prelevando campioni di foglie (con piccioli) \rametti da piante asintomatiche.

Si ricorda che i risultati dei test analitici sono fortemente dipendenti dalla qualità e tipologia del materiale vegetale oggetto di indagine. Per cui occorre che i prelievi dei campioni vegetali siano fatti in modo omogeneo e puntuale. Di seguito vengono definiti dei parametri minimi legati al tipo di campioni prelevati per il laboratorio per le analisi di verifica.


Olea europea (Olivo)

Tipo di tessuto da prelevare per ogni aliquota del campione pool	Numero di aliquote del campione pool	Peso approssimativo del campione da laboratorio	
3-5 rametti/pianta di 10-15 cm con foglie oppure 5-8 foglie mature con picciolo prelevate da rami ben lignificati	5	1 - 2 g (piccioli/nervature centrali/parti apicali germogli/sezioni legnose)	


Prunus dulcis (Mandorlo)

Tipo di tessuto da prelevare per ogni aliquota del campione pool	Numero di aliquote del campione pool	Peso approssimativo del campione da laboratorio	
3-5 rametti/pianta di 10-15 cm con foglie oppure 5-8 foglie mature con picciolo prelevate da rami ben lignificati	5	1 - 2 g (piccioli/nervature centrali/parti apicali germogli/sezioni legnose)	

Nerium Oleander (Oleandro)

Tipo di tessuto da prelevare per ogni aliquota del campione <i>pool</i>	Numero di aliquote del campione <i>pool</i>	Peso approssimativo del campione da laboratorio	
5-8 foglie mature con picciolo/pianta	8	1 - 2 g (piccioli/nervature centrali)	

Polygala mirtifolia

Tipo di tessuto da prelevare per ogni aliquota del campione <i>pool</i>	Numero di aliquote del campione <i>pool</i>	Peso approssimativo del campione da laboratorio	
3-5 rametti/pianta	8	1 - 2 g (piccioli/parti apicali germogli/sezioni legnose)	

Coffea spp (Caffè)

Tipo di tessuto da prelevare per ogni aliquota del campione <i>pool</i>	Numero di aliquote del campione <i>pool</i>	Peso approssimativo del campione da laboratorio
5-8 foglie mature con picciolo/pianta	8	1 - 2 g (piccioli/nervature centrali)

Lavandula dentata

Tipo di tessuto da prelevare per ogni aliquota del campione <i>pool</i>	Numero di aliquote del campione <i>pool</i>	Peso approssimativo del campione da laboratorio
3-5 parti di pianta	8	1 - 2 g (parti di pianta)

**Aliquota: singola pianta da campionare, 8 aliquote = 8 piante da campionare, che andranno poi a costituire 1 campione unico per l'analisi.*

I SFR nell'ambito della verifica periodica annuale dei soggetti iscritti al RUP eseguono le ispezioni visive nei centri aziendali e relativi siti di produzione delle 6 specie interessate.

Nell'esecuzione dell'ispezione annuale, lo schema di campionamento si applica alla consistenza numerica riferita ad **un unico insieme** costituito da tutte le piante delle sei specie ospiti eventualmente presenti nel centro aziendale, che andrà a costituire il "Number of units in lot (ISPM 31)".

Possono essere escluse dal computo della consistenza numerica tutte le piante già munite di Passaporto delle piante CE, valido per l'anno in corso, per le quali risulti chiara la tracciabilità nel centro aziendale.

Ai fini della tracciabilità sulla fornitura/ricezione di piante di *Olea europaea*, *Nerium oleander*, *Polygala myrtifolia*, *Prunus dulcis*, *Lavandula dentata* e *Coffea* la registrazione delle relative informazioni avviene attraverso il registro dei passaporti ai sensi dell'art. 21 del D.lgs 214/2005 e ss.mm., che deve essere conservato per tre anni.

Esempio: centro aziendale con la seguente consistenza, presente al momento dell'ispezione:

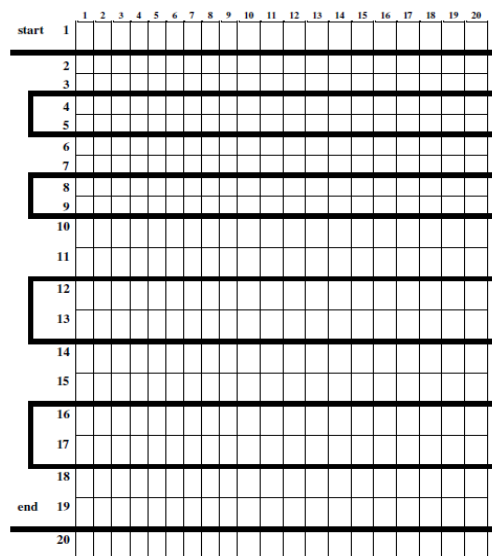
	Coffea**	Lavandula dentata**	Nerium oleander**	Olea europea*	Polygala myrtifolia**	Prunus dulcis*	
N° di piante presenti nel sito	0	200	200	500	100	1.000	Totale piante 2.000
N° di piante da campionare in base a ISPM 31	0	9	9	22	4	44	Piante da campionare 88
N° di campioni pool da prelevare con 5*/8** aliquote (piante) per campione pool	0	2	2	5	1	9	Totale campioni pool 19

Per cui su 2000 piante si andranno a prelevare **19 campioni pool**.

Per la creazione dei campioni pool si arrotonderà sempre in eccesso (vedasi esempio: allegato excel foglio: SFR campioni&analisi).

2.2 Piante asintomatiche

Dal punto di vista operativo (ovvero come muoversi in un vivaio e\o impianto al fine di verificare la presenza di sintomi) si possono utilizzare schemi diversi, ma si consiglia di muoversi lungo le file e definendo la frequenza di prelievo: definire la consistenza numerica del lotto unico, verificare il numero di aliquote da prelevare secondo la ISPM 31, dividere la consistenza/numero di aliquote per ottenere la frequenza di prelievo. Es. nel caso di cui sopra per *Olea europea*: 500 piante/22 piante da campionare = 23 (per eccesso). Quindi utilizzando lo schema a lato, ogni 23 piante prelevare una aliquota (5 aliquote formeranno un campione pool). Lo stesso schema si cercherà di riproporre anche per le piante in vaso su bancali nelle serre di produzione.



2.3 Piante sintomatiche

Quanto detto per le piante asintomatiche vale anche per le piante eventualmente sintomatiche presenti in un lotto oggetto di ispezione. Saranno campionate in modo prioritario le piante sintomatiche rispetto alle altre. **In questo caso i campioni devono essere relativi alla singola pianta sintomatica e non faranno parte del campione pool.** Per soddisfare lo schema di campionamento previsto con un'affidabilità del 99% ipotizzando un livello di presenza di piante infette del 5% (ISPM 31) i campioni restanti verranno prelevati da piante nelle immediate vicinanze di quelle sintomatiche prelevando esclusivamente campioni pool.

Per i campi di piante madri, CAC e certificati, eventualmente presenti nei centri aziendali, per il campionamento si applicherà sempre ISPM 31 e l'insieme di campionamento sarà il singolo CPM distinto per specie, in questo caso si camperà ogni singola pianta madre (no campioni pool).

I Centri di Conservazione (CCP) e di Premoltiplicazione (CP) di Olivo e Mandorlo (e se presenti anche per le altre specie) devono saggiare annualmente tutte le piante madri presenti, prima della cessione del materiale di moltiplicazione, con metodi molecolari.

3. Periodo e modalità di campionamento:

La concentrazione del batterio nella pianta infestata dipende da fattori ambientali, dal ceppo di *X. fastidiosa* e dalla pianta ospite, quindi per massimizzare la probabilità di trovare il batterio, si dovrebbe effettuare il campionamento durante il periodo di attività vegetativa della pianta.

Per quanto riguarda il periodo e le modalità di campionamento i documenti di riferimento sono:

- Guidelines for the survey of *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) in the Union territory
- PM 3/82 (1) Inspection of places of production for *Xylella fastidiosa*
- Nota Tecnica Mipaaf per l'attuazione del monitoraggio di *Xylella fastidiosa* in zone indenni del 9 novembre 2015, n. 23445.

Il campionamento deve essere eseguito da ispettori e agenti fitosanitari con il supporto del soggetto autorizzato.

Durante la fase di campionamento deve essere garantita la tracciabilità dei campioni e/o delle aliquote *pool* prelevate.

I campioni in buste sigillate devono essere inviati a cura degli ispettori fitosanitari al laboratorio per le analisi.

Di norma i campioni devono essere inviati da parte del SFR a un laboratorio avente sede nella Regione di competenza dello stesso SFR. Solo in caso di indisponibilità di un laboratorio sul territorio regionale ci si dovrà rivolgere a un laboratorio di una Regione

limitrofa (questo per evitare il possibile spostamento di campioni positivi da una zona all'altra dell'Italia).

4. Analisi di laboratorio:

Le analisi di laboratorio nelle zone indenni sono realizzate secondo quanto previsto dalle linee guida nazionali (cfr PM7-24 EPPO)..

Le analisi di I° livello sono eseguite presso:

- laboratori dei SFR (art. 53 comma 2 Dlgs 214/05)
- laboratori di cui all'art. 53 comma 6 del Dlgs 214/05
- laboratori di cui all'art. 53 comma 8 del Dlgs 2014/05

Entro il 15/02/2018 i SFR trasmetteranno al SFC la lista dei laboratori di cui sopra presenti nella Regione di competenza, il SFC comunicherà questa lista a livello nazionale.

Le analisi di II° livello sono eseguite presso il Laboratorio indicato dal SFC.

I risultati delle analisi di laboratorio:

- **Negativi** sono inviati al SFR e al fornitore e possono permettere l'autorizzazione all'uso del Passaporto delle piante CE e la conseguente commercializzazione dei vegetali sottoposti a indagine.
- Positivi sono inviati esclusivamente al SFR che adotta le idonee misure fitosanitarie previste dalla normativa vigente.

5. Costi:

I SFR possono applicare, per le attività di campionamento e analisi, previste nella presente Nota tecnica, una tariffa fitosanitaria ai sensi dell'art. 55 comma 7 del Dlgs 214/05 e ssmm.

I SFR possono prescrivere al soggetto autorizzato l'effettuazione delle analisi dei campioni ufficiali di cui ai punti 2.1 e 2.2. presso i laboratori di cui all'art. 53, c6 o c8.

6. Bibliografia di riferimento

- ISPM n. 31 – *Methodologies for sampling of consignment*
- *Guidelines for the survey of Xylella fastidiosa* (Wells et al.) *in the Union territory*
- PM 3/82 (1) *Inspection of places of production for Xylella fastidiosa*
- PM 7/24 (2) *Diagnostic for Xylella fastidiosa*
- Nota Tecnica Mipaaf per l'attuazione del monitoraggio di Xylella fastidiosa in zone indenni del 9 novembre 2015, n. 23445.

ALLEGATI:

- Tabella excel: 1_foglio per azienda da compilare
2_ SFR campioni&analisi