



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

Roma,

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

**Ai Servizi Fitosanitari Regionali
LORO SEDI**

Oggetto: Nota tecnica: Procedura per le ispezioni ufficiali, campionamento e analisi nei vivai ai sensi dell'articolo 9.8 della Decisione (UE) 789/2015 relativa alle misure per *Xylella fastidiosa*.

La decisione di esecuzione (UE) 2017/2352, che ha modificato la decisione di esecuzione (UE) 2015/789, ha introdotto all'articolo 9, comma 8, un rafforzamento dei controlli in vivaio per sei specie ospiti (*Coffea*, *Lavandula dentata*, *Nerium oleander*, *Olea europaea*, *Polygala myrtifolia* e *Prunus dulcis*), risultate maggiormente sensibili alle diverse subspecie europee di *Xylella fastidiosa*.

Al riguardo, i centri aziendali (con i relativi siti di produzione) situati in area indenne che coltivano le suddette 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.

Con la presente nota tecnica si definiscono le procedure operative, approvate nella seduta del Comitato fitosanitario nazionale del 16 gennaio 2018, per l'effettuazione delle ispezioni ufficiali nei vivai situati in area indenne che producono le summenzionate specie vegetali considerate ad alto rischio, ai sensi di quanto disposto dal suddetto articolo 9, comma 8, della Decisione (UE) 789/2015.

Codesti Servizi fitosanitari si attengono alla presente nota nello sviluppo delle attività e informano tutti i soggetti iscritti al RUP delle modifiche introdotte dalla decisione di esecuzione (UE) 2017/2352.

I soggetti interessati trasmettono ai Servizi fitosanitari regionali, mediante il prospetto allegato (tabella 1), le previsioni di produzione annuale delle sei specie ospiti entro il 1° 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).

Sulla base dei dati riportati, i Servizi fitosanitari regionali predispongono per singolo centro aziendale il numero dei campioni e programmano la relativa attività di campionamento e analisi.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

1. MODALITÀ DI ISPEZIONE E CAMPIONAMENTO 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, che deve essere in grado di individuare con un'affidabilità del 99% un livello di presenza di piante infette pari al 5%.

1.1 MODALITÀ DI PRELIEVO DEI CAMPIONI VEGETALI

Poiché *Xylella fastidiosa* si localizza nel tessuto xilematico degli ospiti, nel picciolo, e nella nervatura centrale della foglia, è opportuno operare nel seguente modo:


- 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, la predisposizione di campioni pool 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 campione prelevato per il laboratorio per le analisi di verifica.

***Olea europea* (Olivo)**


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 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)	




*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale


Prunus dulcis (Mandorlo)

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 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)	



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

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 Servizi fitosanitari regionali 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* della tabella riportata nell'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/, che deve essere conservato per tre anni.

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



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

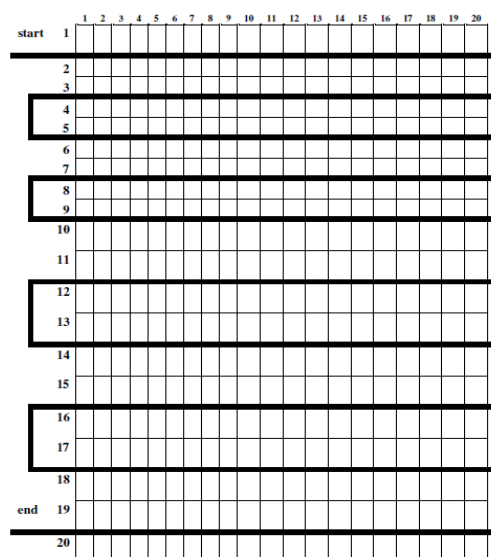
DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

	<i>Coffea**</i>	<i>Lavandula dentata**</i>	<i>Nerium oleander**</i>	<i>Olea europea*</i>	<i>Polygala myrtifolia **</i>	<i>Prunus dulcis*</i>	
N° di piante presenti nel sito	0	200	200	500	100	1.000	Totale piante 2.000
N° di piante da campionare in base all'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

Nell'esempio riportato, per 2000 piante si devono prelevare **19 campioni pool**. Per la creazione dei campioni pool si arrotonderà sempre in eccesso (vedasi esempio: Tabella 2).

1.2 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 l'ISPM 31, dividere la consistenza/numero di aliquote per ottenere la frequenza di prelievo. Ad 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.





Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

1.3 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 campioni pool.

1.4 CAMPI DI PIANTE MADRI

Per i campi di piante madri, CAC e certificati, eventualmente presenti nei centri aziendali, per il campionamento si applicherà sempre l'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.

2. 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;
- Nota Tecnica Mipaaf per l'attuazione del monitoraggio di *Xylella fastidiosa* in zone indenni del 9 novembre 2015, n. 23445;
- PM 3/82 (1) Inspection of places of production for *Xylella fastidiosa*.

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 Servizio fitosanitario regionale a un laboratorio avente sede nella Regione di competenza dello stesso Servizio fitosanitario regionale.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

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 del territorio nazionale).

3. 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 Servizi fitosanitari regionali (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 Servizi fitosanitari regionali trasmetteranno al Servizio fitosanitario centrale la lista dei laboratori di cui sopra presenti nella Regione di competenza e ogni successiva modifica. Il Servizio fitosanitario centrale comunicherà questa lista a livello nazionale.

Le analisi di II livello sono eseguite presso il Laboratorio indicato dal Servizio fitosanitario centrale.

I risultati delle analisi di laboratorio:

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

4. COSTI

I Servizi fitosanitari regionali 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 D.lgs 214/05.

I Servizi fitosanitari regionali 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.

5. 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.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELLE POLITICHE EUROPEE ED INTERNAZIONALI
E DELLO SVILUPPO RURALE
DIREZIONE GENERALE DELLO SVILUPPO RURALE
DISR V – Servizio fitosanitario centrale

- 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 1. Produzioni annuali
- Tabella 2. Definizione campioni

IL DIRETTORE DEL
SERVIZIO FITOSANITARIO CENTRALE
Bruno Caio Faraglia