

31993L0085

18.10.1993

IL-ĠURNAL UFFIĊJALI TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ

L 259/1

ID-DIRETTIVA TAL-KUNSILL Nru 93/85/KEE
ta' l-4 ta' Ottubru 1993
dwar il-kontroll tat-thassir forma ta' ċirku tal-patata

IL-KUNSILL TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ,

Wara li kkunsidra t-Trattat li jstabbilixxi l-Komunità Ekonomika Ewropea, b'mod partikolari l-Artikolu 43 tiegħu,

Wara li kkunsidra il-proposta tal-Kummissjoni ⁽¹⁾,

Wara li kkunsidra l-opinjoni tal-Parlament Ewropew ⁽²⁾,

Wara li kkunsidra l-opinjoni tal-Kumitat Ekonomiku u Soċjali ⁽³⁾,

Billi l-produzzjoni tal-patata għandha posta ta' importanza fl-agrikoltura tal-Komunità; billi l-produzzjoni tal-patata hija dejjem mgħeddha minn organiżmi li jagħmlu l-hsara;

Billi, permezz tal-protezzjoni tal-kultivazzjoni tal-patata kontra dawn l-organiżmi li jagħmlu l-hsara, mhux biss għandha thares li tinzamm il-kapaċità produttiva iżda l-produttività agrikola għandha tiżdied;

Billi miżuri protettivi sabiex ma jithallhiex li jidhlu organiżmi li jagħmlu hsara fit-territorju ta' l-Istat Membru jkollha biss effett limitat jekk dawn l-organiżmi ma jiġux kontrollati fl-istess hin u b'mod preċiż fil-Komunità kollha u ma jithallwex jinfirxu;

Billi wiehed mill-organiżmi li jagħmlu l-hsara lill-patata huwa l-*Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis et al. ssp. *sepedonicus* (Spieckermann et Kotthoff) Davis et al., l-aġent 'pathogenic' tal-marda tat-thassir forma ta' ċirku tal-patata; billi din il-marda sehhet f'xi partijiet tal-Komunità u xi riżorsi limitati ta' din l-infezzjoni għadhom jeżistu;

Billi hemm riskju serju illi l-kultivazzjoni tal-patata fil-Komunità kollha jekk ma jittiehdux miżuri effettivi sabiex tinsab din il-marda u tiġi stabbilita d-distribuzzjoni tagħha, sabiex ma tithallhiex issehh u tinfirex, u, jekk tinsab, sabiex ma tithallhiex tinfirex u tiġi kkontrollata bl-iskop li tinqered

Billi, sabiex jiġi żgurat dan, ċerti miżuri għandhom jittiehdu fi hdan il-Komunità; billi l-Istati Membri għandhom, ukoll, ikunu kapaċi jiehdu miżuri żejda jew aktar iebsa fejn huwa neċessarju, sakemm dan ma jkunx ta' tfixkil għaċ-ċaqlieg tal-patata fi hdan il-Komunità, bl-eċċezzjoni ta' dak li hemm stabbilit fid-Direttiva tal-Kunsill Nru 77/93/KEE tal-21 ta' Diċembru 1976 dwar il-miżuri protettivi kontra d-dhul għewwa l-Istati Membri ta' organiżmi li jagħmlu l-hsara lill-pjanti jew prodotti tal-pjanti ⁽⁴⁾; billi dawn il-miżuri għandhom jiġu notifikati lill-Istati Membri l-ohrajn u lill-Kummissjoni;

Billi d-Direttiva tal-Kunsill Nru 80/665/KEE ta' l-24 ta' Ġunju 1980 dwar il-kontroll tat-thassir forma ta' ċirku tal-patata ⁽⁵⁾, stabbilixxiet il-miżuri minimi li għandhom jittiehdu minn kull Stat Membru kontra t-thassir forma ta' ċirku tal-patata;

Billi, minn dak iż-żmien, saru żviluppi importanti fl-għarfien tal-marda tat-thassir fil-forma ta' ċirku tal-patata u li tinqabad il-patoġenu tat-thassir forma ta' ċirku tal-patata;

Billi l-applikazzjoni tal-parti dwar is-sahha tal-pjanti tal-Komunità bhala arja mingħajr fruntieri interni tagħti lok għal eżaminazzjoni mill-ġdid u reviżjoni ta' xi disposizzjonijiet tad-Direttiva Nru 80/665/KEE;

Billi, bhala riżultat ta' din l-eżaminazzjoni mill-ġdid, id-disposizzjonijiet tad-Direttiva Nru 80/665/KEE ma kienux biżżejjed, u speċifikazzjoni aktar tal-miżuri huma mehtieġa;

⁽¹⁾ ĠU C 93, tat-2.4.1993, pġ. 12.

⁽²⁾ ĠU C 176, tat-28.6.1993, pġ. 210.

⁽³⁾ ĠU C 161, ta' l-14.6.1993, pġ. 18.

⁽⁴⁾ ĠU L 26, tal-31.1.1977, pġ. 20. Direttiva kif emendata l-ahhar mid-Direttiva tal-Kummissjoni Nru 92/103/KEE (ĠU L 363, tal-11.12.1992, pġ. 1).

⁽⁵⁾ ĠU L 180, ta' l-14.7.1980, pġ. 30.

Billi, f'dik is-sitwazzjoni, id-Direttiva Nru 80/665/KEE għandha tithassar u l-miżuri li hemm b'żonn jiġu adottati;

(ċ) jekk tinsab, li ma tithallix tinfirx u li tiġi kkontrollata bil-ghan illi tinfirx.

Billi l-miżuri għandhom jikkunsidraw, l-ewwel, illi, il-marda tista' tibqa' mohbija u ma tingharafx sew fl-uċuh tar-raba' li qeghdin jikbru kif ukoll fil-basal li hemm mahżuna, u għalhekk tista' tiġi evitata biss billi għall-produzzjoni tintuża' żerriegħa tal-patata li ma fihix l-infezzjoni, u, t-tieni, illi servejs sistematiċi uffiċjali huma b'żonjużi sabiex tiġi lokalizzata; billi t-tifrix tal-*pathogen* qalb l-uċuh tar-raba' li qed jikbru m'huwix l-aktar fattur importanti, imma billi l-patoġenu jista' jeżisti wkoll matul ix-xitwa fi pjanti tal-patata li tinżera minn jedda (voluntarja) u dawn huma l-akbar sors ta' infezzjoni li permezz tagħhom tingarr minn staġun għall-iehor; billi l-*pathogen* jinfirx b'mod ewlieni minhabba t-tniġġis tal-patata permezz tal-kuntatt ma' patata infettata kif ukoll b'kuntatt ma' l-ghodda li biha tinżera, tinhasad u titqandel jew tingarr u tinhażen f'kontenituri li ġew kontaminati bl-organizmu permezz ta' kuntatt minn qabel ma' patata infettata; billi dawn l-oġġetti infettati jistgħu jibqgħu bl-infezzjoni għal xi żmien wara li jiġu kontaminati; billi t-tifrix tal-*pathogen* jista' jtnaqqas jew ma jithallix permezz ta' diżinfestazzjoni ta' dawn l-oġġetti; billi kwalunkwe kontaminazzjoni taż-żerriegħa tal-patata tisser riskju akbar għat-tifrix tal-*pathogen*;

Billi, sabiex jiġu stabbiliti d-dettalji għal dawn il-miżuri ġenerali, kif ukoll għal dawk il-miżuri aktar iebsa jew miżjuda li jittiehdu mill-Istati Membri sabiex ma tithallix issir l-introduzzjoni tal-patoġenu fi hdan it-territorju tagħhom, huwa mixtieq illi l-Istati Membri jikkoperaw mill-viċin mal-Kummissjoni fi hdan l-Kumitat Mwaqqaf għas-Sahha tal-Pjanti ('il quddiem magħruf bħala 'l-Kumitat'),

ADOPTA DIN ID-DIRETTIVA:

Artikolu 1

Din id-Direttiva hija dwar il-miżuri li għandhom jittiehdu fl-Istati Membri kontra l-*Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis et al. ssp. *sepedonicus* (Spieckermann et Kotthoff) Davis et al., il-kawża tat-thassir forma ta' ċirku tal-patata ('il quddiem magħrufa bħala 'l-organizmu'), sabiex:

(a) tinsab u tiġi stabbilita d-distribuzzjoni tagħha;

(b) li ma tithallix titrabba u tinfirx; u

Artikolu 2

1. L-Istati Membri għandhom jagħmlu servejs sistematiċi uffiċjali għall-organizmu fuq basal u, fejn huwa xieraq, fuq il-pjanti tal-patata (*Solanum tuberosum* L.) li ġejjin mit-territorju tagħhom, għall-konferma li m'hemm l-organizmu.

Għal dan l-istharriġ, fil-każ tal-basal kampjuni kemm taż-żerriegħa kif ukoll ta' patata ohra għandhom jittiehdu, preferibbilment minn lottijiet mahżuna u li ġew soġġetti għal harsien uffiċjali jew għal testijiet sorveljati fil-laboratorju billi jintuża l-metodu li hemm stabbilit fl-Anness I sabiex jinsab u jintgħaraf l-organizmu. Barra minn hekk, fejn huwa xieraq, tista' ssir ispezzjoni viżwali uffiċjali jew sorveljata uffiċjalment billi jinqatgħu basal fuq kampjuni ohrajn.

Fil-każ ta' pjanti, dan is-servizz għandu jsir skond metodi xierqa u l-kampjuni għandhom ikunu soġġetti għal testijiet uffiċjali xierqa jew sorveljati uffiċjalment.

In-numru, l-orijini, l-istratifikazzjoni u l-hin tal-ġabra tal-kampjuni għandhom jiġu deċiżi mill-korpi uffiċjali responsabbli skond it-tifsira tad-Direttiva Nru 77/93/KEE bażata fuq prinċipji sodi u statistika u l-bijoloġija ta' l-organizmu, u billi tittiehed konsiderazzjoni tas-sistemi ta' produzzjoni tal-patata ta' l-Istati Membri konċernati. Id-dettalji ta' dan għandhom jingħataw kull sena lill-Istati Membri l-ohrajn u l-Kummissjoni, bl-iskop illi jiġu żgurati livelli ta' tqabbil ta' sigurtà bejn l-Istati Membri għall-konferma tan-nuqqas tal-organizmu.

2. Ir-riżultati tas-servizz uffiċjali previsti fil-paragrafu 1 għandhom jiġu notifikati mill-anqas darba fis-sena lill-Istati Membri l-ohrajn u lill-Kummissjoni. Id-dettalji ta' din in-notifika għandhom ikunu konfidenzali. Jistgħu jingħataw lill-Kumitat skond il-proċeduri mnizzla fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE.

3. Id-disposizzjonijiet li ġejjin jistgħu jiġu adottati b'mod konformi mal-proċedura stabbilita fl-Artikolu 16a tad-Direttiva 77/93/KEE;

— id-dettalji tas-servizz previsti fil-paragrafu 1 hawn fuq, sabiex jitwettqu b'mod konformi mal-prinċipji xjentifiċi sodi u l-prinċipji ta' l-istatistiċi,

— id-dettalji tan-notifika previsti fil-paragrafu 2 hawn fuq.

4. Id-disposizzjonijiet li ġejjin għandhom jiġu adottati b'mod konformi mal-proċedura stabbilita fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE:

— il-metodu xieraq għas-servjejs u t-testijiet previst fit-tielet paragrafu tal-paragrafu 1 hawn fuq.

Artikolu 3

L-Istati Membri għandhom jiżguraw illi xi grajja suspettuża jew konfermata tal-preżenza ta' l-organizmu, fil-pjanti tal-patata u l-basal jew maħsuda, maħżuna jew basal li ġew innegożjati fit-territorju tagħhom għandhom jiġu rapportati lill-korpi uffiċjali responsabbli tagħhom stess.

Artikolu 4

1. Fil-każijiet fejn hemm suspett li graw, il-korp uffiċjali responsabbli ta' l-Istat Membru li fih ġie rapportat il-każ għandu jiżgura li jsiru testijiet uffiċjali fil-laboratorju jew sorveljati uffiċjalment, billi jintuza l-metodu li hemm stabbilit fl-Anness I, u b'mod konformi mal-kondizzjonijiet speċifikati fil-punt 1 ta' l-Anness II, sabiex jiġi konfermat jew skartat is-suspett tal-grajja. Fil-każ ta' qabel, ir-rekwiziti stabbiliti fil-punt 2 ta' l-Anness II għandhom jgħoddu.

2. Sakemm tasal il-konferma jew l-iskartar tal-grajja suspetta taht il-paragrafu 1, f'dawk il-każijiet fejn hemm grajja suspetta fejn, jew:

- (i) sintomi suspettati tal-marda li ntgħarfu viżwalment; jew,
- (ii) test pożittiv ta' *immunofluorescence* kif speċifikat fl-Anness I jew test xieraq pożittiv iehor li ġie identifikat,

il-korpi uffiċjali responsabbli ta' l-Istati Membri għandhom:

- (a) ma jhallux il-moviment ta' dawk il-lottijiet jew konsenji kollha li minnhom ittiedu l-kampjuni, bl-eċċezzjoni ta' dawk taht il-kontroll tagħhom u dment illi ġie stabbilit illi m'hemm ebda riskju magħruf tat-tifrix ta' l-organizmu;
- (b) jiehdu passi sabiex tinstab l-orijini tal-grajja suspettata;
- (ċ) idahhlu miżuri ta' prekawżjoni oħrajn li jkunu bażati fuq il-livell ta' riskju stmat, sabiex jiġi evitat li jinfirx l-organizmu. Dawn il-miżuri jistgħu jinkludu l-kontroll uffiċjali tal-moviment tal-basal u l-pjanti l-oħrajn kollha ġewwa jew barra mill-postijiet assoċjati mal-grajja suspettata.

3. Id-disposizzjonijiet li ġejjin jistgħu jiġu adottati skond il-proċeduri stabbiliti fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE:

— il-miżuri li hemm għalihom referenza fil-paragrafu 2 (c) hawn fuq.

4. Id-disposizzjonijiet li ġejjin għandhom jiġu adottati skond il-proċedura stabbilita fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE:

— it-test l-iehor xieraq li hemm previst fil-paragrafu 2 (ii) hawn fuq;

Artikolu 5

1. Jekk it-testijiet uffiċjali jew dawk sorveljati uffiċjalment fil-laboratorju permezz tal-metodu stabbilit fl-Anness I jikkonfermaw il-preżenza ta' l-organizmu fil-kampjun tal-basal, pjanti jew partijiet ta' pjanti, il-korpi uffiċjali responsabbli ta' l-Istat Membru, wara li jikkunsidra prinċipji xjentifiċi sodi, il-bioloġija ta' l-organizmu u l-produzzjoni partikolari, il-marketing u s-sistemi ta' proċessar f'dak l-Istat Membru għandu:

- (a) jiddikjara bħala kontaminati l-basal jew il-pjanti, konsenji u/jew lottijiet, u l-makkinarju, il-vettura, il-bastiment, il-maħżen, jew taqsimiet tiegħu, u kwalunkwe oġġetti oħrajn inkluz il-materjal ta' l-imballaġ, li minnu jkun ittiedu l-kampjun, u fejn huwa xieraq, il-posti(jiet) tal-produzzjoni u l-għalqa (għelieqi) li fihom inhasdu l-basal jew il-pjanti;
- (b) jistabbilixxi, billi jiehu in konsiderazzjoni d-disposizzjonijiet tal-punt 1 ta' l-Anness III, il-firxa tat-tniġġis probabbli permezz ta' kuntatt qabel jew wara l-hsad jew permezz ta' rabta fil-produzzjoni mat-tniġġis dikjarata;
- (ċ) jimmarka ż-żona fuq il-baži tad-dikjarazzjoni tat-tniġġis taht (a), il-fatt li għet stabbilit il-firxa probabbli tat-tniġġis taht (b), u l-possibbiltà li jinfirx l-organizmu, billi tittiedu konsiderazzjoni tad-disposizzjonijiet tal-punt 2 ta' l-Anness III.

2. L-Istati Membri għandhom jinnotifikaw lill-Istati Membri l-oħrajn u lill-Kummissjoni minnufih, skond id-disposizzjonijiet tal-punt 3 ta' l-Anness III, ta' kwalunkwe kontaminazzjoni dikjarata taht il-paragrafu 1 (a) u d-dettalji taż-żona mmarkata taht il-paragrafu 1 (ċ).

Id-dettalji ta' din in-notifika għandhom ikunu konfidenzali. Din tista' tinbagħat lill-Kumitat b'mod konformi mal-proċedura stabbilita fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE.

3. Bħala riżultat tan-notifika taht il-paragrafu 2 u l-elementi stabbiliti hemmhekk, Stati Membri l-oħrajn imniżżla fin-notifika għandhom, fejn huwa xieraq, jiddikjaraw kontaminazzjoni, jistabbilixxu l-firxa tal-probabbli kontaminazzjoni u jimmarkaw iż-żona, skond il-paragrafu 1 (a), (b) u (ċ) rispettivament.

Artikolu 6

L-Istati Membri għandhom jistabbilixxu illi fejn il-basal jew il-pjanti ġew dikjarati li huma kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a), testijiet b'mod konformi ma' l-Artikolu 4(1) għandhom jitwettqu fuq hażniet tal-patata li huma klonalment relatati ma' daww involuti fit-tniġġiż. It-testijiet għandhom isiru fuq basal jew pjanti skond il-bżonn sabiex jiġi stabbilit il-probabbli sors ewlieni ta' l-infezzjoni u l-firxa probabbli tat-tniġġiż, preferibbilment skond il-grad ta' riskju.

Bħala riżultat tat-testijiet, għandhom isiru aktar deskrizzjonijiet tat-tniġġiż, tiġi stabbilita l-firxa probabbli tat-tniġġiż u tiġi mmarkata ż-żona, kif inhu xieraq, taht l-Artikolu 5(1)(a), (b) u (ċ) rispettivament.

Artikolu 7

1. L-Istati Membri għandhom jistabbilixxu illi l-basal u l-pjanti, dikjarati li huma kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a) ma jistgħux jinżerġu u li, taht il-kontroll tal-korpi uffiċjali responsabbli tagħhom, għandhom:

- jeqirduhom, jew
- jehilsu minnhom b'xi mod iehor, skond il-miżura(i) uffiċjali ta' sorveljar, b'mod konformi mad-disposizzjonijiet tal-punt 1 ta' l-Anness IV, dment illi jiġi stabbilit illi m'hemm ebda riskju li jinġarraf li permezz tiegħu jista' jinfirx l-organizmu.

2. L-Istati Membri għandhom jistabbilixxu illi l-basal u l-pjanti dikjarati li huma probabbilment kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(b) ma jistgħux jinżerġu u, mingħajr preġudizzju għar-riżultati tat-testijiet li hemm għalihom riferenza fl-Artikolu 6 għal hażniet relatati permezz ta' kloni, taht il-kontroll tal-korpi uffiċjali responsabbli, jintużaw jew jinħelsu bl-aktar mod xieraq kif speċifikat fil-punt 2 ta' l-Anness IV, b'tali mod illi jiġi stabbilit illi m'hemm ebda riskju li jintġarraf għall-firxa ta' l-organizmu.

3. L-Istati Membri għandhom jistabbilixxu illi l-makkinarju, il-vettura, il-bastiment, il-maħżen, jew taqsimiet minnu, u kwalunkwe oġġetti oħrajn inkluz il-materjal ta' l-imballaġ, dikjarati bħala kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a) jew stabbiliti bħala probabbilment kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(b), għandhom jew jinqerdu jew jitnaddfu jew jiġu diżinfettati billi jintużaw il-metodi xierqa kif speċifikat fil-punt 3 ta' l-Anness IV. Wara d-diżinfestazzjoni, kwalunkwe oġġett minn dawn m'għandux jibqa' jitqies bħala kontaminat.

4. Mingħajr preġudizzju għall-miżuri mdahhla taht il-paragrafi 1, 2 u 3, l-Istati Membri għandhom jistabbilixxu illi, fiż-żona mmarkata taht l-Artikolu 5(1)(ċ), serje ta' miżuri, kif speċifikat fil-punt 4 ta' l-Anness IV, għandhom jiġu implimentati.

Artikolu 8

1. L-Istati Membri għandhom jistabbilixxu illi ż-żerriegħa tal-patata għandha tissodisfa r-rekwiżiti tad-Direttiva Nru 77/93/KEE u għandhom jiġu minn linja diretta mill-materjal miksub taht programm uffiċjali approvat li jkun jinstab mingħajr l-organizmu fit-testijiet uffiċjali jew daww sorveljati uffiċjalment billi jintuża wiehed mill-metodi mnizżla fl-Anness I.

It-testijiet hawn fuq imsemmija għandhom isiru:

- fil-każijiet fejn it-tniġġiż jaffettwa l-produzzjoni taż-żerriegħa tal-patata, fuq il-pjanti ta' l-għażla tal-kloni tal-bidu,
- fl-każijiet oħrajn, jew fuq il-pjanti ta' l-għażla tal-kloni tal-bidu jew fuq kampjuni rappreżentattivi taż-żerriegħa bażika tal-patata jew ta' tniissiet ta' qabel.

2. Id-disposizzjonijiet li ġejjin jistgħu jiġu adottati skond il-proċeduri stabbiliti fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE:

- ir-regoli dettaljati ta' l-applikazzjoni ta' l-ewwel inċiż tat-tieni subparagrafu tal-paragrafu 1 ta' dan l-Artikolu,
- ir-regoli dwar il-kampjuni rappreżentattivi li previsti fit-tieni inċiż tas-subparagrafu tal-paragrafu 1 ta' dan l-Artikolu.

Artikolu 9

L-Istati Membri għandhom joħorġu bandu dwar iż-żamma jew t-tqandil ta' l-organizmu.

Artikolu 10

Mingħajr preġudizzju għad-disposizzjonijiet tad-Direttiva Nru 77/93/KEE, l-Istati Membri jistgħu jawtorizzaw id-derogi mill-miżuri li hemm riferenza għalihom fl-Artikoli 6, 7 u 9 ta' din id-Direttiva għal skopijiet ta' sperimentazzjoni jew xjentifiċi, u għal xogħol fuq għażla ta' varjetà, dment illi d-derogi ma jippreġudikawx il-kontroll ta' l-organizmu u ma jinholoq ebda riskju li jinfirx l-organizmu.

Artikolu 11

L-Istati Membri jistgħu jadottaw miżuri oħrajn jew aktar iebsa skond kif inhu mixtieq sabiex jiġġieldu l-organizmu jew ma jhalluxx jinfirx, sa fejn ikun konformi mad-disposizzjonijiet tad-Direttiva Nru 77/93/KEE.

Il-miżuri miżjuda li jissemmev fl-ewwel subparagrafu jistgħu jinkludu d-disposizzjoni illi ż-żerriegħa tal-patata li tista' biss tinżera' hija dik li jew giet ċertifikata uffiċjalment jew spezzjonata uffiċjalment sabiex tilhaq ir-rekwiżiti ta' l-istandards tas-saħħa tal-pjanti. Ta' l-aħhar jista' japplika b'mod partikolari fil-każ ta' bdiewa li huma awtorizzati jużaw, fl-istabbiliment tagħhom, żerriegħa tal-patata li kisbu mill-hsad tagħhom stess u fil-każijiet l-oħrajn fejn tinżera żerriegħa tal-patata prodotta minnhom stess.

Id-dettalji ta' dawn il-mizuri għandhom jiġu notifikati lill-Istati Membri l-oħrajn u lill-Kummissjoni.

Artikolu 12

Emendi lill-Annessi ta' din id-Direttiva, magħmula fid-dawl ta' l-iżviluppi xjentifiċi jew ta' tagħrif teknoloġiku, għandhom jiġu adottati skond il-proċeduri stabbiliti fl-Artikolu 16a tad-Direttiva Nru 77/93/KEE.

Artikolu 13

1. Sal-15 ta' Novembru 1993 l-Istati Membri għandhom jadottaw u jippubblikaw id-disposizzjonijiet li hemm bżonn sabiex ikunu konformi ma' din id-Direttiva. Għandhom jinfurmaw lill-Kummissjoni minnufih b'dan.

Meta l-Istati Membri jadottaw dawn id-disposizzjonijiet, għandhom ikollhom riferenza għal din id-Direttiva jew għandhom ikunu flimkien ma' din ir-riferenza fil-hin li fih jiġu pubblikati uffiċjalment. Il-proċedura sabiex issir din ir-riferenza għandha tiġi adottata mill-Istati Membri.

L-Istati Membri għandhom japplikaw dawn id-disposizzjonijiet mis-16 ta' Novembru 1993.

2. L-Istati Membri għandhom jikkomunikaw lill-Kummissjoni d-disposizzjonijiet kollha tal-liġi nazzjonali li huma jadottaw fil-qasam kopert minn din id-Direttiva. Il-Kummissjoni għandha tinforma lill-Istati Membri l-oħrajn ta' dan.

Artikolu 14

Direttiva Nru 80/665/KEE permezz ta' dan qed tiġi mhassra b'effett mis-16 ta' Novembru 1993.

Artikolu 15

Din id-Direttiva hija indirizzata lill-Istati Membri.

Magħmula fil-Lussemburgu, fl-4 ta' Ottubru 1993.

Għall-Kunsill

W. CLAES

Il-President

ANNEX I

METODU SABIEX TINGHARAF U SSIR DIJANJOSI TAL-BACTERIUM TAT-THASSIR FORMA TA' ĊIRKU, CLAVIBACTER MICHIGANENSIS (Smith) Davis et al. ssp. SEPEDONICUS (Spieckermann et Kotthof) Davis et al. FTAQSIMIET TAL-BASAL TAL-PATATA

1. Tnehhija tal-heel-end cores

- 1.1. Ahsel 200 basla taht l-ilma tat-vit nieżel u nehhi l-epidermide minn madwar l-għarqub ta' kull basla billi tuża xafra jew għodda biex tqaxxar il-patata u tiddiżinfetta b'mod regolari; id-diżinfestazzjoni tista' tintlaħaq billi xxarrab l-għodda tat-tqaxxir f'70 % ethanol u tagħtih in-nar.
- 1.2. Bir-reqqa nehhi l-conical tissue cores mit-truf ta' l-għarqub b'sikkina jew għodda biex tqaxxar il-patata. Malli tnehhihom, it-truf ta' l-għarqub għandhom jiġu proċessati fi żmien 24 siegħa (Ara il-paragrafu 3) jew konservati f'temperatura ta' -20° C għal mhux aktar minn ġimgħatejn.

2. Eżaminazzjoni viżwali tas-sintomi tat-thassir forma ta' ċirku

Wara li tnehhij t-truf ta' l-għarqub, aqta' kull basla minn nofs u ara jekk hemmx preżenza tas-sintomi tat-thassir forma ta' ċirku.

Aghsar il-basal u ara jekk hemmx xi forma ta' *macerated tissues* mill-vascular tissue.

Is-sintomi li jidhru l-aktar kmieni huma *glassiness* jew *translucence* żgħira tat-tissue mingħajr irtubija madwar is-sistema vaskolari, b'mod partikolari fejn it-tarf ta' l-għarqub. Iċ-ċirku vaskolari lejn it-tarf ta' l-għarqub jista' jkun xi ftit aktar skur bhala kulur min-normal. L-ewwel sintomu li jintagħraf malajr huwa wiehed fejn iċ-ċrieki vaskolari jkollhom kulur safrani u meta l-basla tinghafas ġentilment, kolonni ta' materjal qisu gobon johroġ minn go l-vini. F'dan l-istadju l-vascular tissue tista' ssir kannella. Għall-ewwel, dawn is-sintomi jistgħu jiġu ristretti għal parti waħda ta' l-għarqub, mhux bilfors viċin it-tarf ta' l-għarqub u jistgħu jinfirxu gradwalment lejn iċ-ċirku kollu. Hekk kif tagħmel progress l-infezzjoni, issir il-qerda tal-vascular tissue; il-cortex ta' barra tista' tissepura minn mal-cortex ta' ġewwa. Fi stadji avvanzati ta' l-infezzjoni, jidhru xquq fuq il-wiċċ tal-basla, li huma sikwiet ahmar fil-kannella fit-truf. Invażjoni sekondarja ta' fungus jew bakterja jistgħu jahbu s-sintomi u jista' jkun diffiċli, jekk mhux impossibbli, sabiex wiehed jagħraf s-sintomi avvanzati tat-thassir forma ta' ċirku minn thassir iehor tal-basla.

3. Preparazzjoni tal-kampjuni għat-tbajja ta' Gram staining, tbajja immunofluorescence (IF) u test tal-brunġiel

- 3.1. Aghhfeġ flimkien it-truf ta' l-għarqub sakemm ikollok tifrik shih f'diluent magħruf bhala *Corynebacterium sepedonicum* li mhuwiex velenuż (per eżempju, 0,05 M phosphate buffered saline (PBS) pH 7,0) f'temperatura ta' mhux anqas minn 30° C; kif ukoll l-użu ta' deflocculant mhux velenuż u jista' jkun hemm bżonn ukoll ta' aġent ta' l-antifoam mhux velenuż (Appendiċi 1 u 2). Tifrik żejjed għandu jiġi evitat.
- 3.2. Ohroġ il-bakterja mit-tahlita permezz ta' wiehed minn dawn il-metodi li ġejjin ⁽¹⁾:
 - A. (a) Centrifuge f'mhux aktar minn 180 g għal 10 minuti.
 - (b) Centrifuge supernatant f'mhux anqas minn 4 000 g għal 10 minuti. Ferra' u skarta s-supernatant.
 - B. (a) Aghlli t-tifrik joqgħod għal madwar 30 minuta sakemm il-fdalijiet tat-tissue joqogħdu.
 - (b) Saffi s-supernatant permezz ta' filter paper (Whatman No 1) impoġġi f'filtru ta' sintered glass (No 2 = 40-100mm) billi tuża vacuum pump ta' l-ilma. Battal il-filtrat ġewwa tubu tas-centrifuge. Ahsel il-filtru b'PBS sterili sa volum ta' filtrat massimu ta' 35 ml.
 - (c) Centrifuga l-filtrat f'mhux anqas minn 4 000 g għal 20 minuta.
- 3.3. Issospendi l-pellet f'0,01 M phosphate buffer pH 7,2 sterili (Appendiċi 2) sabiex tagħtih volum shih ta' madwar 1 ml. Aqşam f'biċċtejn ugwali u zomm parti waħda għal skopijiet ta' riferenza billi tiffriża f'-20° C ⁽²⁾ jew permezz ta' lyophilization. Aqşam il-parti l-oħra f'biċċtejn u uża nofs wiehed għat-test IF u għat-tebgha ta' Gram u l-oħra għat-test tal-brunġiel.

⁽¹⁾ Metodu alternattiv li tohroġ il-bakterja gie mogħti minn Dinesen, 1984.

⁽²⁾ Hemm xhieda (Janse and Van Vaerenberg, 1987) illi billi tiffriża tista' tnaqqas il-viabbiltà tal-Corynebacterium sepedonicum. Is-sospensjoni tal-pellet; o 10 % glycerol tista' ssolvi l-problema.

- 3.4. Huwa imperattiv illi l-kontrolli pożittivi u l-kampjuni tas-C. *sepedonicum* jiġu trattati separatament sabiex jiġi evitat t-tniġġis. Dan japplika għas-slides ta' l-IF u għat-testijiet tal-brunġiel.
4. *Tbajja' ta' Gram*
- 4.1. Ipprepara t-tbajja' ta' Gram għad-dilutions tal-pellets kollha (5.2.1) u għal kull basla maqtugħha (2) li turi glassiness, tħassir jew sintomi suspetti oħrajn. Kampjuni għandhom jittiehdu mit-tarf tat-tissues bil-marda.
- 4.2. Ipprepara t-tbajja' ta' Gram għal kulturi ta' C. *sepedonicum* magħrufa u, jekk huwa possibbli, għal tissue infettata b'mod naturali (5.1).
- 4.3. Iddetermina liema sempji fihom ċelloli tipikici ta' Gram positive coryneform. B'mod ġenerali, ċelloli tas-C. *sepedonicum* huma twal bejn 0,8 u 1,2mm u wiesgħin bejn 0,4 u 0,60mm.

Proċedura xierqa ta' biex ittebba' tingħata fl-Appendiċi 3.

Preparazzjonijiet minn infezzjonijiet naturali jew kulturi mifruda riċentament juru predominanza ta' vireg ta' coccoid rods li s-soltu huma kemm xejn iżgħar miċ-ċelloli minn kulturi oder agar. Fil-biċċa l-kbira tal-kulturi tal-medja, ċelloli tas-C. *sepedonicum* huma vireg pleomorphic coryneform u jistgħu jagħtu reazzjoni Gram li tvarja. Iċ-ċelloli huma singoli, pari b'minkbejn karatteristiċi tad-diviżjoni li titgħawweġ, u fxi okkażjonijiet fi gruppi rregolari li sikwit nirreferu għalihom bħala palisades jew ittri Ċiniżi.

5. Skema għat-testijiet IF

- 5.1. Uża l-antiserum f'parti magħrufa tal-C. *sepedonicum* - ATCC 33113 (NCPBP 2137), jew NCPBP 2140. Dan għandu jkollu IF titre ta' aktar minn 1:600. Żid kontroll wiehed PBS fuq is-slide tat-test sabiex tistabbilixxi jekk il-fluorescein isothiocyanate anti-rabbit immunoglobulin conjugate (FITC) jithallatx maċ-ċelloli tal-bakterja. *Corynebacterium sepedonicum* (ATCC 33113 (NCPBP 2137), NCPBP 2140) għandu jintuża bħala homologous antigen controls fuq slide separata. Tissue li tiġi infettata b'mod naturali (miżmuma mil-lyophilization jew frizata f'-20° C) għandha tintuża fejn huwa possibbli bħala kontroll simili fuq l-istess slide (Stampa 2).
- 5.2. *Proċedura*
- 5.2.1. Ipprepara tliet serial ten fold dilutions (10^1 , 10^2 , 10^3) tal-pellet finali filma distillat (Stampa 1).
- 5.2.2. Hu l-qies standard tal-volum li hemm b'żonn bil-pipetta sabiex tiksi t-tieqa (madwar 25 ml) ta' kull pellet dilution jew C. *sepedonicum* suspension (madwar 106 ċelloli/ml) għal twieqi ta' multispot slide kif muri fl-istampa 1.

Figura 1

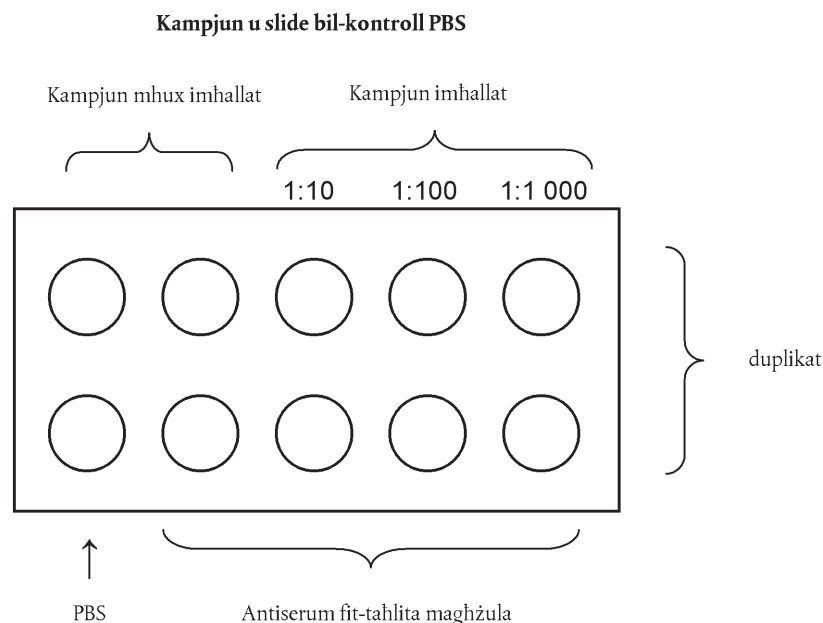
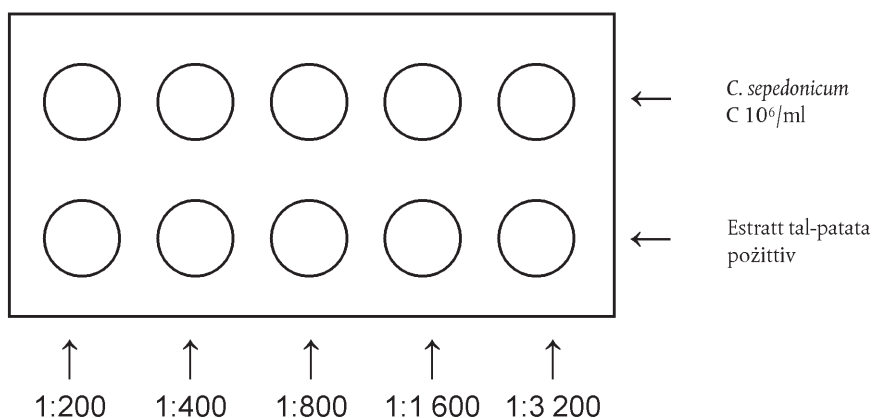


Figura 2

Slide ta' kontroll pożittiv



Tahlita Antiserum

- 5.2.4. Iksi t-twieqi xierqa b'*C. sepedonicum antiserum* fit-tahlitiet rakkomandati, 0,01 M PBS pH 7,2 (Appendiċi 2), kif muri fl-istampa 1. (Uża PBS għall-kontroll FITC.) It-tahlita ta' l-Antiserum li tahdem għandha tkun bejn wiehded u iehor nofs dik tal-IF titre. Jekk tahlitiet ohra ta' l-Antiserum għandhom jiġu inklużi, *slides* separati għandhom jitlestew għal kull tahlita li ser tintuża.
- 5.2.5. Inkuba f'kamra umda b'temperatura ta' l-Ambjent għal 30 minuta.
- 5.2.6. Lahlah bir-reqqa b'0,01 M PBS pH 7,2. Aħsel għal madwar hames minuti fi tliet tibdiliet ta' 0,01 M PBS pH 7,2.
- 5.2.7. Bir-reqqa nehhi l-umdità żejda.
- 5.2.8. Agħtti kull tieqa b'tahlita ta' FITC fl-istess tahlita li ntuzat sabiex jiġi stabbilit t-titre u inkubat f'kamra mudlama u umda f'temperatura ta' l-ambjent għal 30 minuta.
- 5.2.9. Lahlah u aħsel bħal qabel.
- 5.2.10. Żid madwar 5 sa 10 ml ta' 0,1 M *phosphate buffered glycerine* pH 7,6 (jew prodott simili b' pH ta' mhux anqas minn 7,6) lil kull tieqa u agħtti bi hġieġa (Appendiċi 2).
- 5.2.11. Eżamina taħt mikroskopju mwahhal b'sors ta' dawl epifloresxenti addattat sabiex wiehded ikun jista' jaħdem b'FITC. Tkabbir ta' 400 sa 1 000 huwa xieraq. Skanja t-twieqi ripetuti għal madwar żewġ dijametri f'angoli retti u madwar il-perimetri tat-tieqa.

Osserva ċ-ċelloli floresxenti f'kontrolli pożittivi u stabbilixxi t-titre. Osserva ċ-ċelloli fit-tieqa ta' kontroll FITC/PBS u, jekk mhux preżenti, ipproċedi bit-twieqi l-ohrajn. Stabbilixxi f'minimu ta' 10 għelieqi mikroskopiċi l-mean number ta' ċelloli morfologikament floresxenti tipici f'kull għalqa u kkalkula n-numru kull ml ta' pellet mhux imħallta (Appendiċi 4).

Hemm bosta problemi inerenti fl-eżaminazzjoni ta' l-immunofloresxenti.

- Il-popolazzjonijiet ta' l-isfond ta' ċelloli floresxenti b'morfologija li m'hijiex tipika u bakteria saprofitika li tirreagixxi mal-qies u l-morfologija simili għall-*Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* huwa probabbli li jeżistu fil-pellets tal-patata. Ikkunsidra biss iċ-ċelloli b'daq tipiku u morfologiku.

Minhabba l-possibbiltà ta' reazzjonijiet minn naha għall-ohra, kampjuni b'test ta' immunofloresxenti pożittiv għandhom jerġghu jiġu ttestjati b'antiserum differenti.

- Il-limitazzjoni teknika sabiex jintgħaraf permezz ta' dan il-metodu jinsab bejn 103 u 104 ċelloli kull ml ta' pellet mhux imħallta. Kampjuni ta' ċelloli tipici IF meta wiehded jghodd sal-limitu ta' l-għarfien fejn huma ġeneralment negattivi għal *C. m. ssp. sepedonicus* imma jista' jkun marbut mat-testijiet tal-brunġiel.

Test ta' l-immunoflorexenti negattiva huwa identifikat għal kwalunkwe kampjun fejn ċelloli morfologikament tipikament florexenti jinstabux. Il-kampjuni għandhom jitqiesu bħala 'mhux immniġġsa' bil-*Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

It-test tal-brunġiel mhux mitlub.

Test pożittiv ta' l-immunoflorexenti huwa identifikat għal kull kampjun li fih jinsabu ċelloli morfologikament tipikament florexenti.

Kampjuni li għalihom għe identifikat test pożittiv ta' immunoflorexenti li fih iż-żewġ antisera għandhom jitqiesu bħala 'potenzjalment immniġġsa' bil-*Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

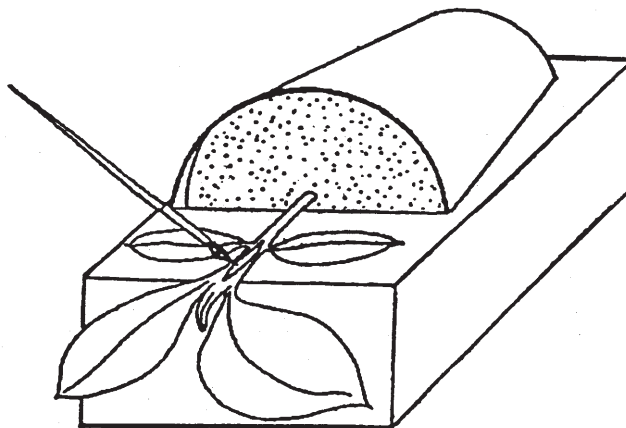
It-test tal-brunġiela huwa mitlub għall-kampjuni meqjusa bħala potenzjalment immniġġsa.

6. It-test tal-brunġiel

Għal dettalji kulturali, ara Appendiċi 5.

- 6.1. Qassam il-pellet minn 3.3 bejn mill-anqas 25 brunġiela fl-istadju tal-weraq 3 (Appendiċi 5) b'wiehed mill-metodi mogħti hawn taħt (6.2, 6.3 jew 6.4).
- 6.2. *Qasma tat-tlaqqim I*
 - 6.2.1. Poġġi kull qasrija mimduda (blokka ta' *expanded polystyrene* b'biċċa 5 cm fonda × 10 cm wiesgħa × 15 cm twila, b'wiċċ minnhom imnehhi (Stampa 3) addattat għal qasrija ta' 10 cm). Strixxa ta' fojl ta' l-aluminium sterilizzat għandha titpoġġa bejn iż-zokk u l-blokk għal kull kampjun ittestjat. Il-pjanta tista' tinżamm fil-post permezz ta' lastiku madwar il-blokk.
 - 6.2.2. B'uzo ta' skarpel għamel qatgħa longitudinali u dijagonali ta' 0,5 sa 1,0 ċm tul u madwar tliet kwarti tad-dijamentru taz-zokk u madwar tliet kwarti tad-dijamentru fond, bejn il-kotiledon u l-ewwel werqa.
 - 6.2.3. Żomm il-qasma miftuha bil-ponta tax-xafra tas-sikkina u iżbogh l-*inoculum* ġewwa fiha billi tuża pinzell ta' l-ghajnejn jew ta' l-artist irqieqa hafna mimlija bil-pellet. Qassam il-bqija tal-pellet bejn il-brunġiel.
 - 6.2.4. Aghlaq il-qasma b'vazellina sterilizzata minn siringa ta' 2 ml.

Figura 3



6.3. *Qasma tat-tlaqqim II*

- 6.3.1. Żomm il-pjanta bejn żewġ swaba, qattar qatra (madwar 5 sa 10 ml) tal-pellet sospiża fuq iż-zokk bejn il-cotyledons u l-ewwel werqa.
- 6.3.2. Uża sikkina sterilizzata, aghmel qasma dijagonalni (l'angolu ta' madwar 5°), 1,0 cm twila u fonda madwar 2/3 tal-hxuna taz-zokk, ibda mill-qatra tal-pellet.
- 6.3.3. Aghlaq il-qasma bil-vazellina sterilizzata minn siringa.
- 6.4. *Tlaqqim bis-siringa*
 - 6.4.1. Issaqqix il-brunġiel għal ġurnata qabel it-tlaqqim sabiex tnaqqas il-pressjoni *turgor*.

- 6.4.2. Laqqam iz-zkuk tal-brunġiel 'il fuq mill-cotyledons billi tuża siringa mwahhla ma' labra ipodermika (mhux anqas minn 23G). Qassam il-pellet bejn il-brunġiel.
- 6.5. Laqqam 25 pjanta mil-kultura *C. sepedonicum* u, fejn huwa possibbli, bit-tissue tal-basla infettata b'mod naturali (5.1) bl-istess metodu ta' tlaqqim (6.2, 6.3 u 6.4).
- 6.6. Laqqam 25 pjanta b'0,05 M PBS sterilizzat bl-istess metodu ta' tlaqqim (6.2, 6.3 jew 6.4).

- 6.7. Inkuba l-pjanti f'kondizzjonijiet xierqa (Appendiċi 5) għal 40 ġurnata. Eżamina regolarment għal sintomi wara tmint ijiem. Ghodd in-numru ta' pjanti li juri s-sintomi. *C. sepedonicum* tikkawża l-weraq sabiex jinxfu fil-brunġiel u dan jista' jibda bħala irtubija tal-ġnub jew bejn il-vini. It-tissue li tinxf għal bidu tidher hadra skura jew ittikkjata imma mbagħad tiċċara qabel ma ssir nekrotika. Inxif bejn il-vini jidher bħala tidlik mgharraq fl-ilma. Tissue nekrotika sikwit ikollha t-truf sofor għajtu. Il-pjanti ma jinqatlux bil-fors; iktar kemm ikun twil iż-żmien qabel ma jiżviluppaw is-sintomi, akbar ikun iċ-ċans li jgħixu. Il-pjanti jistgħu jegħlbu l-infezzjoni. Il-pjanti z-żgħar tal-brunġiel li huma suxxetibbli huma hafna aktar sensittivi għall-popolazzjonijiet żgħar ta' *C. sepedonicum* minn pjanti ikbar, għalhekk huma bżonju illi jintużaw pjanti fl-istadju jew eżatt qabel l-istadju tal-weraq 3.

It-tnixxif jista' jiġi mill-popolazzjonijiet ta' baktirja oħrajn jew fungi preżenti fil-pellet tat-tissue tal-basla. Dawn jinkludu *l-Erwinia carotovora*, subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, *Phoma exigua* var. *foveata*, kif ukoll popolazzjonijiet kbar bħal-baktirja *saprophytic*. Dan it-tnixxif jista' jintgħaraf minn daww ikkawżati mis-*C. sepedonicum* minhabba illi weraq shah jew pjanti shah jinxfu malajr.

- 6.8. Ipprepara tebgħa ta' Gram (4) għall-gruppi kollha tal-brunġiel li juru sintomi, billi tuża biċċiet mit-tissue tal-weraq niexef u tissue miz-zokk tal-pjanti u ifred fuq medda xierqa ta' sustanzi (7). Iddiżinfetta l-wiċċ tal-weraq tal-brunġiel u z-zkuk billi timsah b'70 % ethanol.
- 6.9. Taħt ċerti ċirkostanzi, b'mod partikolari fejn il-kondizzjonijiet tat-tkabbir m'humiex mill-aqwa, jaf ikun possibbli għas-*C. sepedonicum* li jeżisti bħala infezzjoni mohbija ġewwa l-brunġiel anke wara inkubazzjoni ta' 40 ġurnata. Dawn l-infezzjonijiet jafu jkun r-riżultat ta' *stunting* u nuqqas ta' qawwa fil-pjanti mlaqqma. Jekk it-test IF jiġi kkunsidrat pożittiv, jista' jkun neċessarju li jsir test ieħor. Għalhekk huwa essenzjali li jitqabblu r-rati tat-tkabbir tal-brunġiel kollu ittestjat bil-kontrolli ta' tlaqqim sterilizzati 0,05 M PBS u li l-kondizzjonijiet ta' l-ambjent fis-serra jiġu mharsa.

Rakkomandazzjonijiet għal testijiet oħra huma dawn li ġejjin:

- 6.9.1. aqla z-zkuk 'il fuq mil-post tat-tlaqqim u nehhi l-weraq;
- 6.9.2. farrak iz-zkuk ġewwa 0,05 M PBS pH 7,0, kif fil-3.1 sa 3.2;
- 6.9.3. uża nofs il-pellet sabiex tagħmel tebgħa ta' Gram (4) u test IF (5);
- 6.9.4. uża n-nofs l-ieħor sabiex tagħmel test ieħor tal-brunġiel (6) jekk it-tebgħa ta' Gram u/jew it-testijiet IF huma pożittivi. Uża kultura tas-*C. sepedonicum* magħrufa u sterilizza l-kontrolli 0,05M PBS. Jekk is-sintomi m'humiex imharsa wara t-test, il-kampjun għandu jiġi meqjus negattiv.

7. Iżolazzjoni tal-*C. sepedonicum*

Dianjosi tista' tiġi konfermata biss jekk is-*C. sepedonicum* jiġi mifrud u b'hekk magħruf (8). Għalkemm is-*C. sepedonicum* huwa organiżmu li jagħti fastidju, jista' jiġi mifrud mit-tissue sintomatika. Madankollu, wiehed jista' jehles minnu billi jkabbar malajr il-baktirja saprofirika u, għalhekk, firdiet diretti mill-pellet tat-tissue tal-basla (3.3) m'humiex rakkomandati. Il-brunġiel jipprovi mezz eċċellenti għall-ghażla għat-tkabbir tas-*C. sepedonicum* u jipprovi wkoll test eċċellenti ta' konferma bħala wiehed li żamm l-organiżmu.

Firdiet għandhom isiru mill-basal tal-patata u l-brunġiel kollu li jkun fih is-sintomi (4, 6). Tifrik taz-zkuk tal-brunġiel meta jkun hemm bżonn għandu jsir kif stabbilit fi 3. u 6.9.

- 7.1. Dendil ta' faxxi fuq wiehed mill-mezzi li ġejjin: (il-formoli jinghataw fl-Appendiċi 6):

sostanza *dextrose agar* (għas-subkultura biss),

ħmira peptone *glucose agar*,

sustanza ħmira *dextrose agar*,

ħmira mahruġa mill-melħ minerali agar.

Inkubazzjoni f'temperatura ta' 21° C sa 20 ġurnata.

C. sepedonicum jikber bil-mod, is-soltu jagħmel kolonji forma ta' koppla li jiġu bil-ponta, kulur il-krema fi żmien għaxart ijiem.

Erga għamel il-faxex sabiex tistabbilixxi l-purità.

Is-subkulturi jtejbju r-rati tat-tkabbir. Kolonji tipiċi huma kulur il-krema fl-abjad jew avorju, tondi, lixxi, imqabbżin, qishom koppla 'l barra, *mucoïd-fluidal*, bi truf shaħ u s-soltu b'dijametru bejn 1 u 3 mm.

Identifikazzjoni

Hafna bakterja Gram pożittiva, b'karatteristiċi kolonjali simili għal daww tas-*C. sepedonicum*, jistgħu jiġu mifruda minn daww b'saħħithom jew minn patata marida jew mill-brunġiel. F'dan il-kuntest, is-*C. sepedonicum* għandu jiġi identifikat permezz tat-testijiet li ġejjin:

Test IF (5.1),

Test tal-brunġiel,

Testijiet ta' nutrizzjoni u fisjoloġija (Appendiċi 7),

— Test ta' l-ossidazzjoni/fermentazzjoni (O/F),

— Test ta' l-*oxidase*,

— Tkabbir f'37° C,

— Produzzjoni ta' l-*urease*,

— aesculin hydrolysis,

— idrolizi tal-lamtu,

— tolleranza għal soluzzjoni ta' 7 % sodium chloride,

— test ta' l-*indole*,

— test tal-*catalase*,

— produzzjoni tal-H₂S,

— *citrate utilization*,

— idrolizi tal-ġelatina

— aċtu minn: glycerol, lactose, rhamnose u salicin,

— Tebgha ta' Gram.

It-testijiet għandhom jinkludu kontroll ta' *C. sepedonicum* magħruf. It-testijiet ta' nutrizzjoni u fisjoloġiċi għandhom isiru billi tintuża l-inocula minn subkulturi ta' agar bis-sostanzi. Xebħiet morfologiċi għandhom isiru minn kulturi ta' agar b'sostanzi *dextrose*.

Għat-test IF, il-popolazzjoni taċ-ċelloli għandu jiġi rranġat għal 106 ċelloli/ml. Jekk it-titru IF jkun simili għal dak tal-kultura tal-*C. sepedonicum* magħrufa.

Għat-test tal-brunġiel il-popolazzjonijiet taċ-ċelloli għandu jiġi rranġat għal 107 ċelloli/ml. It-testijiet tal-brunġiel għandhom isiru billi jintużaw 10 pjanti għal kull organizmu tat-test, billi terġa' tintuża l-kultura magħrufa bħala *C. sepedonicum* u kontrolli ta' ilma sterili; b'kulturi puri tipikament qed jinxfu jinkisbu f'20 ġurnata imma l-pjanti li ma juru ebda sintomi wara dan iż-żmien għandhom jitqegħdu f'inkubatur għal total ta' 30 ġurnata f'temperaturi li jwasslu għat-tkabbir tal-brunġiel imma li ma jkunux ta' aktar minn 30° C (Appendiċi 5). Jekk wara 30 ġurnata s-sintomi ma jkunux preżenti, il-kultura ma tistax tiġi konfermata bħala li hija forma patogenika tal-*Corynebacterium sepedonicum*.

Test	<i>C. sepedonicum</i>
O/F	Oxidative inert jew dghajjef
Oxidase	-
Catalase	+
Tnaqqis tan-Nitrate	-
Attivita' ta' l-Urease	-
Produzzjoni tal-H ₂ S	-
Produzzjoni ta' l-indole	-
Citrate utilization	-
idrolizi tal-lamtu	- jew dghajjef
Tkabbir f' 37°C	-
Tkabbir f' 7 % NaCl	-
idrolizi tal-gelatina	-
Aesculin hydrolysis	+
Aċtu minn:	
- Glycerol	-
- Lactose	- jew dghajjef
- Rhamnose	-
- Salicin	-

Appendiċi 1

KIF TAGHMEL IL-LIKWIDU BIEX IXXARRAB RAKKOMANDAT MINN LELLIOTT U SELLAR, 1976

D C silicone antifoam MS A compound (Hopkins & Williams Ltd, Cat. No 9964-25, Chadwell Heath, Essex, Ingilterra)	10 ml
Lubrol W flakes (ICI Ltd)	0,5 g
Tetra-sodium pyrophosphate	1 g
0,05 M phosphate buffered saline pH 7,0 (Appendix 2)	litru 1

Appendiċi 2

BUFFERS**0,05 M phosphate buffered saline pH 7,0**

Dan il-buffer jista' jintuza sabiex tixxarrab it-tissue tal-basla (2.1)

Na_2HPO_4	4,26 g
KH_2PO_4	2,72 g
NaCl	8,0 g
Ilma distillat sabiex	litru 1

0,01 M phosphate buffered saline pH 7,2

Dan il-buffer jintuza sabiex jitnaqqas l-effett ta' l-antisera u jinhaslu is-slides washing IF

Na_2HPO_4 12 H_2O	2,7 g
NaH_2PO_4 2 H_2O	0,4 g
NaCl	8,0 g
Ilma distillat sabiex	litru 1

0,1 M phosphate buffered glycerine pH 7,6

Dan il-buffer jintuza bhala element sabiex iżid il-florexzenza fit-test tal-IF

Na_2HPO_4 12 H_2O	3,2 g
NaH_2PO_4 2 H_2O	0,15 g
Glycerol	50 ml
Ilma distillat	100 ml

Appendiċi 3

PROCEDURA TAT-TEBGHA TA' GRAM (MODIFIKAZJONI TA' HUCKER) (DOETSCH, 1981)**Crystal violet solution**

Dewweb 2 g *crystal violet* f'20 ml 95 % *ethanol*.

Dewweb 0,8 g *ammonium oxalate* go 80 ml ilma distillat.

Hallat iż-żewġ soluzzjonijiet.

Lugol's iodine

<i>Iodine</i>	1 g
<i>Potassium iodide</i>	2 g
Ilma distillat	300 ml.

Farrak is-solidi flimkien go lida u mehrież. Żidu ma' l-ilma u hawwad sabiex idewweb f'kontenitur magħluq.

Safranin counterstain solution

Stock solution:

Safranin O	2,5 g
95 % <i>ethanol</i>	100 ml.

Hallat u ahžen.

Rattab: 1:10 sabiex tikseb soluzzjoni li taħdem.

Proċedura tat-tebgha

1. Ipprepara *smears*, arja niexfa u twaħhil tas-shana.
2. Imla s-slide bil-*crystal violet solution* għal minuta.
3. Aħsel malajr bl-ilma tal-vit.
4. Imla fil-*Lugol's iodine* għal minuta.
5. Aħsel bl-ilma tal-vit u xxotta billi tixxuga.
6. Nehhi l-kulur b' 95 % *ethanol*, miżjuda qatra qatra, sakemm ma jitneħhiex aktar kulur jew aghhraq billi ċċaqlaq bil-mod għal 30 sekonda.
7. Aħsel bl-ilma tal-vit u xxotta billi tixxuga.
8. Imla bis-*safranin solution* għal 10 sekondi.
9. Aħsel bl-ilma tal-vit u xxotta billi tixxuga.

Il-bakterja pozittiva Gram tebgha vjola fil-blu; Il-bakterja negattiva Gram tebgha roża fl-aħmar.

Appendici 4

STABILIXXI L-POPOLAZZJONI TA' ĊELLOLI POŻITTIVI IF

Il-wiċċ (S) tat-tieqa tas-slide b'ħafna tikek

$$= \frac{\pi D^2}{4} \quad (1)$$

Fejn D = id-dijametru tat-tieqa.

Il-wiċċ (s) ta' l-għalqa oġġettiva

$$= \frac{\pi d^2}{4} \quad (2)$$

Fejn d = dijametru ta' l-għalqa.

Ikkalkula d jew billi tiehu l-qies direttament jew mill-formoli li ġejjin:

$$s = \frac{\pi i^2}{G^2 K^2 \times 4} \quad (3)$$

fejn i = huwa il-coefficient ta' l-għalqa (jiddependi fuq it-tip ocular u jvarja minn 8 sa 24),

K = coefficient tat-tubu (1 jew 1,25),

G = tkabbir ta' 100×, 40× etċ) għan

$$\text{minn (2) } d = \sqrt{\frac{4s}{\pi}}$$

$$\text{minn (3) } d = \sqrt{\frac{4 \times \frac{\pi i^2}{G^2 K^2 \times 4}}{\pi}} = \frac{i}{GK} \quad (4)$$

Għodd in-numru ta' ċelloli tipiċi florexenti f'kull għalqa (c).

Ikkalkula n-numru ta' ċelloli tipiċi florexenti f'kull tieqa (C).

$$C = c \frac{S}{s}$$

Ikkalkula n-numru ta' ċelloli tipiċi florexenti f'kull ml pellet (N)

$$N = C \times \frac{1000}{y} \times F$$

Fejn y = volum tal-pellet fuq it-tieqa,

Fejn F = fattur tad-dilution tal-pellet.

Appendici 5

KULTURA TAL-BRUNĠIEL

Iżra' ż-żerriegħa tal-brunġiel (*Solanum melongena* cv. Black Beauty) f'kompost ta' żerriegħa pasturizzata. Ittrapjanta żerriegħa żgħira bil-*cotyledons* miftuha b'mod shih (10 sa 14-il ġurnata) f'kompost għall-ippjantar pastorizzat.

Uża brunġiel fl-istadju 3 tal-weraq meta tnejn, imma mhux aktar minn tlieta, mill-weraq ikunu infetthu bis-shih.

Il-brunġiel għandu jitkabbar f'dar tal-ħgieġ bil-kondizzjonijiet ta' l-Ambjent li ġejjin:

tul tal-ġurnata: 14 il-sieġha jew tul ta' ġurnata naturali jekk aktar twila;

temperatura jum 21–24 °C

lejl: 15 °C

NB: *C. sepedonicum* ma jikbrix f'temperaturi >30 °C. Jekk it-temperaturi ta' matul il-lejl ma jaqghux għal 15 °C, tista' ssehh hsara lill-*chromophore* (nekrozi lewn il-fidda).

Hsara lill-għeruq magħmula minn *sciariid larvae* tista' tingheleb billi tiġi applikata insetticida xieraq.

Brunġiela cv. Black Beauty jista' jinkiseb minn:

1. AB Hammenhoegs Froe,
270 50 Hammenhoeg,
l-Isvezja;
2. HURST Seeds Ltd,
Avenue Road,
Witham,
Essex CM8 2DX,
Ingilterra;
3. ASGRO l-Italja Sp A,
Corso Lodi, 23,
Milan;
4. KUEPPER
Mitteldeutsche Samen GmbH;
Hessenring 22;
D-37269 Eschwege.

Appendiċi 6

MEZZI GHAT-TKABBIR U L-IŻOLAMENT TAS-C. SEPEDONICUM

Nutrient agar (NA)

Difco bacto sustanza agar filma distillat bir-rata tal-fabbrikant. Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'121 °C għal 15-il minuta.

Nutrient dextrose agar (NDA)

Difco bacto nutrient agar li jkun fih 1 % D(+) *glucose* (monohydrate). Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal 20 minuta.

Yeast peptone glucose agar (YPGA)

<i>Difco bacto</i> estratt tal-hmira (No 0127)	5 g
<i>Difco bacto</i> peptone (No 0118)	5 g
D(+)- <i>glucose</i> (monohydrate)	10 g
<i>Difco bacto</i> purified agar (No 0560)	15 g
Ilma distillat	Litru 1

Sterilizza 0,5 litru volumi ta' mezz permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal għoxrin minuta.

Yeast extrat mineral salts medium (YGM)

<i>Difco bacto</i> estratt tal-hmira	2,0 g
D(+)- <i>glucose</i> (monohydrate)	2,5 g
K ₂ HPO ₄	0,25 g
KH ₂ PO ₄	0,25 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,1 g
MnSO ₄ · H ₂ O	0,015 g
NaCl	0,05 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,005 g
<i>Difco bacto</i> agar purifikat	18 g
Ilma distillat	Litru 1

Sterilizza 0,5 litru volumi ta' *medium* permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal għoxrin minuta.

Appendiċi 7

TESTIJET TA' NUTRIZZJONI U PSIKOLOĠIĠI GHALL-IDENTIFIKAZZJONI TAS-C. SEPEDONICUM

Il-mezzi kollha għandhom ikunu inkubati f'21 °C u eżaminati wara sitt ijiem. Jekk ma jsehh ebda tkabbir, inkuba sa għoxrin ġurnata.

— Test ta' l-ossidità u l-fermentazzjoni (Hugh; Leifson), 1953) – O/F-test.

Basal medju:

KCl	0,2 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,2 g
NH ₄ H ₂ PO ₄	1,0 g
Difco bacto peptone	1,0 g
Difco bacto agar purifikat	3,0 g
D(+)-glucose (monohydrate)	10,0 g
Bromothymol blue	0,03 g
Ilma distillat	Litru 1

Hawwad u rrange sa pH 7,0 sa 7,2 bil-1N KOH.

Poġġi ftubi tal-kultura tal-Pyrex 16 mm × 100 mm (b'kapaċità ta' 12 ml) f'volumi ta' 5 ml u 10 ml.

Sterilizza permezz ta' autoclaving f'115 °C għal 10 minuti.

Laqqam tubi tal-5 ml u 10 ml għal kull kultura. Żid asetikalment 1 sa 2 ml likwidu tal-pitrolju sterili lit-tubu tal-10 ml. Inkuba.

Reazzjoni pożittiva:

Skeda	Kultur	Interpretazzjoni
Miftuh	Isfar	Fermentattiv
Magħluq	Isfar	
Miftuh	Isfar	Ossidattiv
Magħluq	Blue fl-aħdar	
Miftuh	Hadrani	Ossidattiv jew inert
Magħluq	Blu-fl-aħdar	

— **Oxidase reagent** (Kovacs, 1956)

Reagent Kovacs oxidase:

1 % soluzzjoni bl-ilma tat-tetramethyl paraphenylenediamine dihydrochloride (BDH No 30386) filma distillat.

Dan ir-reagent għandu jkun magħmul frisk minn 1 ml volumi jew jista' jinħażen fi flixkun tal-ħġieġ kannella f'5 °C għal bejn 1 u 4 ġimgħat.

Poġġi qatra tar-reagent fuq karta tal-filtru f'Petri dish nadif. Minnufih oghrok f'tit kultura tat-testijiet min-nutrient agar billi tuża platinum loop.

Reazzjoni pożittiva: żvilupp ta' kulur vjola f'10 sekondi. Kulturi b'hinijiet ta' 10 sa 30 sekonda huma pożittivament dgħajfin.

NB: Jinħtieġ illi jintuża l-platinum loop u l-kulturi NA, minhabba li traċċi ta' ħadid u kontenut ta' zokkor għoli fil-mezz ta' tkabbir jista' jagħti riżultati pożittivi foloz.

— **Produzzjoni ta' l-Aċtu mil-lactose, rhamnose, salicin, glycerol**

Ipprepara mezz Hugh; Leifson's O/F mingħajr il-glucose. Qassam ftubi ta' volumi ta' 5ml. Sterilizza permezz ta' autoclaving f'115 °C għal għaxar minuti. Lill-molten base f'45 °C, żidlu asetikalment 0,5 ml ta' soluzzjoni bl-ilma filtrat u sterilizzat 10 % ta' jew glycerol, lactose, rhamnose jew salicin. Hawwad bir-reqqa.

Reazzjoni pożittiva: tibdil fil-kulur minn blu fl-aħdar għal isfar jindika produzzjoni ta' aċtu.

— **Test tal-Catalase**

Poġġi qatra ta' *hydrogen peroxide* (30 volum) fuq slide nadifa, u emulsifika b'*loopful* ta' kulturi billi tuża *platinum loop*.

Reazzjoni pożittiva: produzzjoni ta' b'żieq ta' l-ossigenu fil-qatra jindika il-prezenza ta' *catalase*.

— **Attività *nitrate reductase* u *denitrification*** (Bradbury, 1970)

Mezz ta' kultura:

KNO ₃ (minghajr nitrite)	1 g
Difco bacto yeast extract	1 g
K ₂ HPO ₄	5 g
Ilma distillat	litru 1

Qassam f'volumi ta' 10 ml fi flixkien ta' 20 ml. Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'121 °C għal 15-il minuta.

Reagent A:

H ₂ SO ₄	8 g
5N <i>acetic acid</i>	litru 1

Reagent B:

<i>naphthylamine</i>	5 g
5N <i>acetic acid</i>	litru 1

Laqqam il-mezz tan-nitrat doppjament. Eżamina wara 10 u 20 ġurnata, billi żżid qatra ta' *Lugol's iodine*, 0,5 ml *reagent A* u 0,5 ml *reagent B*. Jekk il-mezz ma jsirx hamrani, żid madwar 50 mg trab taż-żingu. Osserva r-reazzjoni tal-kulur.

Reazzjoni pożittiva:

Reazzjoni tal-kulur

	Stadju 1	Stadju 2
Ebda tnaqqis tan-nitrat	bla kulur	aħmar
Tnaqqis tan-nitrat sa fejn huwa nitrit (<i>nitrate reductase</i> biss)	aħmar	—
Tnaqqis tan-nitrat lil hemm minn nitrit (<i>denitrifikazzjoni</i> - <i>nitrate</i> u <i>nitrite reductase</i>)	bla kulur	bla kulur

— **Produttjoni ta' *urease*** (Lelliott, 1966)

Basal medju:

Oxoid urea agar base (CM53)	2,4 g
Ilma distillat	95 ml

Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal 20 minuta. Kessaħ il-baži mdewba sa 50 °C u żid asetikalment 5 ml ta' 40 % soluzzjoni fl-ilma ta' urea sterilizzata permezz ta' filtru (Oxoid SR20). Hawwad sew.

Qassam f'tubi sterili b'volumi ta' 6 ml (16 × 100 mm) u hallih joqgħod bħal inżul b'bittija tajba.

Reazzjoni pożittiva: il-mezz isfar fl-orangjo jiżviluppa f'aħmar lewn iċ-ċirasa jew f'kulur magenta fir-roża jekk l-attività ta' l-*urease* sseħħ.

Użu ta' *citrate* (Skerman, 1967)

<i>Citrate agar base</i> (Merck 2503)	23 g
Ilma distillat	Litru 1

Hawwad u holl billi ssahhan. Qassam f'volumi ta' 6 ml bħall-mezz ta' l-urea. Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'121 °C għal 15-il minuta u hallih joqgħod bħala inżul.

Reazzjoni pożittiva: l-użu ta' *citrate* huwa indikat b'tibdil fil-kulur minn orangjo għal aħmar.

— **Produzzjoni ta' *hydrogen sulphide*** (Ramamurthi, 1959)

Mezz:

<i>Difco bacto tryptone</i> (No 0123)	10 g
K ₂ HPO ₄	1 g
NaCl	5 g
Ilma distillat	Litru 1.

Holl u qassam f'volumi ta' 6 ml f'tubi 16 × 100 mm. Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal 10 minuti.

Laqqam u ssospendi asetiklament karta ta' *lead acetate* (Merck 9511) mix-xoffa tat-tubu. Żommha fil-post permezz ta' tapp. Inkuba sa 20 ġurnata.

Reazzjoni pożittiva: Produzzjoni ta' H₂S minn *tryptone* hija indikata bl-iżvilupp ta' kulur iswed fil-kannella tal-karta tat-test.

— **Produzzjoni ta' *l-indole*** (Ramamurthi, 1959)

Mezz:

Bħal għat-test tal-H₂S.

Nehhi l-karta tal-*lead acetate* u žid 1 sa 2 ml ta' *diethyl ether* u hawdu bil-mod. Halli s-saffi jisseparaw (hames minuti). Žid 0,5 ml *Kovacs' reagent* (Merck 9293) bir-reqqa fuq in-naħa ta' ġewwa tat-tubu mmejje.

Reazzjoni pożittiva: il-preżenza ta' *l-indole* hija indikata bl-iżvilupp tal-kulur aħmar fis-saff isfar bejn it-taqsimiet ta' l-*ether* u dik bl-ilma.

— **Tkabbir f'37 °C** (Ramamurthi, 1959)

Mezz:

<i>Difco bacto nutrient broth</i> (No 0003)	8 g
Ilma distillat	Litru 1

Hawwad, holl u qassam f'tubi ta' volum ta' 6 ml.

Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'121 °C għal 15-il minuta.

Laqqam u inkuba f'37 °C.

Reazzjoni pożittiva: haresh għal tkabbir.

— **Tkabbir f'7 % sodium chloride** (Ramamurthi, 1959)

Mezz:

<i>Difco bacto nutrient broth</i>	8 g
NaCl	70 g
Ilma distillat	Litru 1

Hawwad, holl u qassam f'tubi ta' volum ta' 6 ml.

Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'121 °C għal 15-il minuta.

Reazzjoni pożittiva: haresh għal tkabbir.

— ***Gelatin hydrolysis*** (Lelliott, Billing; Hayward, 1966)

Mezz:

<i>Difco bacto gelatine</i> (No 0143)	120 g
Ilma distillat	Litru 1

Hawwad, holl u qassam f'tubi ta' volum ta' 6 ml.

Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'121 °C għal 15-il minuta.

Reazzjoni pożittiva: likwifazzjoni tal-ġelatina anke meta miżmuma f'5 °C għal 30 minuta.

— **Idrolizi tal-lamtu**

Mezz:

Difco bacto nutrient agar (molten)	Litru 1
Difco bacto soluble starch (No 0178)	2 g

Hawwad, sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal 10 minuti.

Platti biex tferra'. Laqqam il-platti fuq il-post.

Wara li jsir tkabbir tajjeb (10 sa 20 ġurnata), nehhi parti mit-tkabbir u gharraq b'*Lugol's iodine*.

Reazzjoni pożittiva: idrolizi tal-lamtu huwa indikat permezz ta' żoni ċari taht u madwar it-tkabbir tal-bakterja; il-bqija tal-mezz jittebba' bil-vjola.

— **Attività *Aesculin hydrolase*** (Sneath; Collins, 1974)

Mezz:

Difco bacto peptone	10 g
<i>Aesculin</i>	1 g
<i>Ferric citrate</i> (Merck 3862)	0,05 g
Sodium citrate	1 g
Ilma distillat	Litru 1

Hawwad sabiex tholl u qassam ftubi ta' volum ta' 6 ml. Sterilizza permezz ta' *autoclaving* f'115 °C għal 10 minuti.

Il-medium huwa ċar imma għandu fosforexxenza fil-blu.

Reazzjoni pożittiva: *aesculin hydrolysis* hija indikata bi żvilupp ta' kulur kannella flimkien mat-tluq għal kollox tal-fosforexxenza. Dan jista' jiġi mraġġan billi tintuża lampa tal-ultraviolet.

RIFERENZI

- Bradbury, J. F., 1970. Isolation and preliminary study of bacteria from plants. *Rev. Pl. Path.*, 49, 213-218.
- Dinesen, I. G., 1984. The extraction and diagnosis of *Corynebacterium sepedonicum* from diseased potato tubers. *EPPO Bull.* 14 (2), 147-152.
- Doetsch, R. N., 1981. jistabilixxi methods of light microscopy. In: *Manual of methods for general bacteriology*, American Society for Microbiology, Washington, 21-23.
- Hugh, R. and Leifson, F., 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. *J. Bact.*, 66, 24-26.
- Janse, J. D. and J. Van Vaerenbergh. The interpretation of the EC method for the detection of latent ring rot infections (*Corynebacterium sepedonicum*) in potato. *EPPO Bull.*, No 17, 1987, pp. 1-10.
- Kovacs, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature, Lond.*, 178, 703.
- Lelliott, R. A., 1966. The plant pathogenic coryneform bacteria. *J. appl. Bact.*, 29, 114-118.
- Lelliott, R. A., E. Billing and A. C. Hayward, 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads *J. appl. Bact.*, 29, 470-489.
- Lelliott, R. A. and P. W., Sellar, 1976. The detection of latent ring rot (*Corynebacterium sepedonicum* (Spiek. et Kotth.) Skapt. et Burkh.) in potato stocks. *EPPO Bull.*, 6 (2), 101-106.
- Ramamurthi, C. S., 1959. Comparative studies on some Gram-positive phytopathogenic bacteria and their relationship to the *Corynebacteria*. *Mem. Cornell agric. Exp. Sta.*, 366, 52 pp.
- Skerman, V. B. D., 1967. A guide to the identification of the genera of bacteria. 2nd ed., William and Wilkins Company, Baltimore.
- Sneath, P. H. A. and V. G. Collins, 1974. A study in test reproducibility between laboratories: report of *Pseudomonas* working party. *Antonie van Leeuwenhoek*, 40, 481-527.

ANNEX II

1. Għal kull okkorrenza suspetta li għaliha jiġi identifikat test pożittiv ta' *immunofluorescence* skond il-metodu stabbilit fl-Anness I, u konferma jew rifjut permezz ta' twettiq shih ta' l-istess metodu mistenni, għandu jkun hemm żamma u konservazzjoni xierqa ta':
 - tal-basal jew pjanti kollha, fejn huwa possibbli, u
 - kwalunkwe estratt li jifdal u slides ta' *immunofluorescence* żejda ppreparati, sakemm jitlesta l-metodu msemmi.
 2. Fil-każ ta' konferma pożittiva ta' l-organizmu, għandu jkun hemm retenzjoni u konservazzjoni xierqa ta':
 - l-materjal speċifikat fil-paragrafu 1, u
 - kampjun tal-materjal tal-brunġiela infettat u mlaqqam bl-estratt tal-basla jew il-pjanta, u
 - il-kultura iżolata ta' l-organizmu,sa mill-anqas xahar wara in-notifikazzjoni tal-proċedura taht l-Artikolu 5(2).
-

ANNEX III

1. L-elementi li għandhom jiġu kunsidrati sabiex tiġi stabbilita l-firxa tal-probabbli kontaminazzjoni taht l-Artikolu 5(1)(b), għandhom jinkludu:
 - basal jew pjanti f'post ta' produzzjoni stabbilit bħala kontaminat taht l-Artikolu 5(1)(a),
 - post(ijiet) ta' produzzjoni jew stabbilimenti b'xi rabta ta' produzzjoni mal-basal jew pjanti, stabbiliti bħala kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a), inkluż il-qsim ta' għodda ta' produzzjoni u faċilitajiet diretti jew permezz ta' kuntrattur komuni,
 - basal jew pjanti magħmulin f'post(ijiet) ta' produzzjoni li għalihom hemm riferenza fl-inciż ta' qabel, jew preżenti f'tali post(ijiet) ta' produzzjoni matul il-perjodu meta l-basal u l-pjanti stabbiliti bħala kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a) kienu preżenti fuq il-post jew fil-postijiet ta' produzzjoni li għalihom hemm riferenza fl-ewwel inciż,
 - imħażen ċentrali li jqandlu l-patata mill-postijiet tal-produzzjoni ta' hawn fuq,
 - kwalunkwe makkinarju, vettura, bastiment, maħżen, jew partijiet tagħhom, u kwalunkwe oġġett ieħor jinkludu l-materjal ta' imballaġ, li seta' ġie f'kuntatt mal-basal jew pjanti meqjusa bħala kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a), matul it-12-il xhar ta' qabel jew fejn huwa xieraq,
 - kwalunkwe basal jew pjanti maħżuna, jew f'kuntatt ma', kull struttura jew oġġett imniżżel fl-inciż ta' qabel, qabel it-tindif u d-diżinfestazzjoni ta' dawn l-istrutturi jew oġġetti, u
 - għandha tinkludi, bħala riżultat tat-testijiet taht l-Artikolu 6, basal jew pjanti bl-istess oriġini kolonjali meqjusa bħala kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a) u għal-liema investigazzjonijiet jindikaw illi kontaminazzjoni hija probabbli.
2. L-elementi li għandhom jiġu kkunsidrati sabiex tiġi stabbilita l-firxa possibbli taht l-Artikolu 5(1)(c) ser tinkludi:
 - kemm huma qrib postijiet oħrajn ta' produzzjoni għat-tkabbir tal-patata u ta' pjanti oħrajn li jgħożżuha,
 - il-qbil komuni tal-ħażniet taż-żerriegħa tal-patata.
3. Id-dettalji tan-notifika li hemm riferenza għaliha fl-ewwel subparagrafu ta' l-Artikolu 5(2) għandha tinkludi:
 - għal kull konsenja ta' patata jew lott stabbilit bħala kontaminat, ic-ċertifikati mniżżla fl-Artikoli 7 u 8 tad-Direttiva Nru 77/93/KEE, il-passaport jew in-numru ta' reġistrazzjoni, kif xieraq,
 - l-isem tal-varjetà tal-ħażniet taż-żerriegħa tal-patata, u fejn huwa possibbli f'kull każ ieħor,
 - deskrizzjoni ta' l-elementi tal-kontaminazzjoni stabbiliti u ż-żona ta' demarkazzjoni,
 - id-disponibbiltà ta' l-estratt, ippreparat fuq slides *immunofluorescent*, materjal ta' brunġiela infettata u kultura iżolata ta' l-organizmu mit-test li fih saret konferma pożittiva ta' l-organizmu.

ANNEX IV

1. Il-miżuri uffiċjali sorveljati li hemm referenza ghalihom fl-Artikolu 7(1) sabiex jintremew il-basal u l-pjanti meqjusa bhala kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(a) ghandu jkun:
 - użat għall-ipproċessar industrijali permezz ta' konsenja diretta u immedjata għal impjant ta' proċessar b'faċilitajiet xierqa għar-rimi tal-fdalijiet li għalihom gie stabbilit illi m'hemm ebda riskju li jintgħaraf li jinfirex l-organizmu, u b'sistema ta' disinfezzjoni tal-postijiet tal-ħażna u tal-vetturi li jtilqu, jew
 - miżuri oħra, dment illi gie stabbilit li m'hemm ebda riskju li jintgħaraf li jinfirex l-organizmu; dawn il-miżuri għandhom jiġu notifikati lill-Kummissjoni u lill-Istati Membri l-oħrajn.
2. L-użu xieraq jew ir-rimi tal-basal jew pjanti stabbiliti bhala probabbilment kontaminati taht l-Artikolu 5(1)(b) u li hemm riferenza ghalih fl-Artikolu 7(2), taht il-kontroll tal-korpi uffiċjali responsabbli ta' l-Istati Membri, ghandu jkun:
 - użu bhala patata sabiex tintuża għall-konsum, imballata lesta sabiex titqassam direttament u użu mingħajr ma terġa' tiġi mballata, u intiża sabiex titqassam direttament u għall-użu, jew
 - użu bhala patata għall-użu intiża għall-ipproċessar industrijali, u intiża għat-tqassim dirett u immedjat sa impjant ta' proċessar b'faċilitajiet xierqa ta' rimi ta' skart u ta' disinfezzjoni, jew
 - xi użu ieħor jew rimi, dment illi jiġi stabbilit illi m'hemm ebda riskju li jintgħaraf li jista' jinfirex l-organizmu.
3. Il-metodi xierqa għat-tindif u diżinfezzjoni ta' l-oġġetti li hemm referenza ghalihom fl-Artikolu 7(3) għandhom ikunu dawk li għalihom gie stabbilit illi m'hemm ebda riskju li jintgħaraf li l-organizmu jinfirex u għandu jkun impjegat taht is-sorveljanza tal-korpi uffiċjali responsabbli ta' l-Istati Membri.
4. Is-serje ta' miżuri li għandhom jiġu implimentati fl-Istati Membri fi hdan iż-żona demarkata stabbilita taht l-Artikolu 5(1)(c) u li għaliha hemm referenza fl-Artikolu 7(4) għandha tinkludi:
 - 4.1. fpostijiet fejn il-produzzjoni stabbilita hija kontaminata taht l-Artikolu 5(1)(a):
 - (a) fghalqa stabbilita li għandha tiġi kontaminata taht l-Artikolu 5(1)(a), jew
 - (i) — matul mill-anqas tliet snin ta' tkabbir wara s-sena tal-kontaminazzjoni stabbilita,
 - għandhom jittiehdu miżuri sabiex jinqerdu dawk il-pjanti ta' patata li joffru ruħhom u pjanti oħra naturali li jistiednu l-organizmu, u
 - ebda basal tal-patata, pjanti jew żerriegħa vera, jew pjanti oħra naturali li jistiednu l-organizmu, jew hxejjex li għalihom huwa meqjus li hemm ir-riskju li l-organizmu jgħix jew jinfirex, ma għandhom jinżerghu sakemm l-ghalqa tinsab hielsa minn pjanti tal-patata li joffru ruħhom għal mill-anqas sentejn ta' tkabbir wara xulxin,
 - fl-ewwel staġun tal-ħsad tal-patata wara l-perjodu speċifikat fl-inċiż ta' qabel, żerriegħa tal-patata ċertifikata uffiċjalment għandha tinżergha bhala produzzjoni għall-konsum biss u għandu jsir sħarriġ uffiċjali, kif dettaljat fl-Artikolu 2(1);
 - fl-istaġun tal-ħsad tal-patata wara dak li hemm referenza ghalih fl-inċiż ta' qabel u wara ċiklu ta' rotazzjoni xieraq, żerriegħa tal-patata ċertifikata uffiċjalment għandha tinżergha għal kull żerriegħa jew għall-produzzjoni għall-konsum u sħarriġ uffiċjali kif dettaljat fl-Artikolu 2(1), għandu jittiehed; jew
 - (ii) — matul l-erba' snin ta' tkabbir ta' wara dik li fiha giet stabbilita l-kontaminazzjoni,
 - miżuri għandhom jittiehdu sabiex jiġu eliminati l-pjanti tal-patata volontarji u pjanti oħrajn li jkollhom l-organizmu b'mod naturali, u
 - l-ghalqa għandha tinżera', u tiġi mantnuta, vojta jew bhala post fejn jirgħu l-annimali permanentement bi qtugħ mill-viċin u għalf intensiv,
 - fl-ewwel staġun ta' ħsad tal-patata wara l-perjodu speċifikat fl-inċiż preċedenti, iż-żerriegħa tal-patata ċertifikata uffiċjalment għandha tinżergha għall-produzzjoni jew taż-żerriegħa jew tal-konsum u għandu jsir sħarriġ uffiċjali, kif dettaljat fl-Artikolu 2(1);

(b) fegħlieqi oħrajn:

- fis-sena ta' tkabbir ta' wara li giet stabbilita l-kontaminazzjoni:
 - jew ebda basal tal-patata, pjanti jew żerriegħa ta' veru jew ebda pjanti li b'mod naturali jgħożžu l-organizmu m'għandhom jinżerghu, u miżuri għandhom jittiehdu sabiex jinqerdu pjanti tal-patata volontarji, kif inhu xieraq, jew
 - żerriegħa tal-patata ċertifikata uffiċjalment tista' tinżergha għall-konsum biss, bil-kondizzjoni illi l-korpi uffiċjali responsabbli jkunu sodisfatti illi r-riskju tal-pjanti tal-patata volontarji u ta' pjanti oħrajn li b'mod naturali jkollhom l-organizmu jkunu inqerdu,
- għal, mill-anqas sentejn ta' tkabbir wara dak speċifikat fl-inċiż inċiż preċedenti, żerriegħa ċertifikata uffiċjalment biss għandha tinżergha, sew għall-produzzjoni taż-żerriegħa kif ukoll għall-konsum,
- f'kull sena ta' tkabbir li hemm riferenza għaliha fl-inċiżi ta' qabel għandhom jittiehdu miżuri sabiex jinqerdu l-pjanti tal-patata volontarji u pjanti li b'mod naturali jkollhom l-organizmu, u għandu jsir sħarriġ uffiċjali, kif dettaljat fl-Artikolu 2(1),
- fejn żerriegħa tal-patata ċertifikata uffiċjalment għall-produzzjoni għall-konsum fis-sena ta' tkabbir wara dik li fiha giet stabbilita kontaminazzjoni, il-wiċċ tar-raba' li jkun qed jikber għandu jiġi spezzjonat fi żminijiet xierqa u l-pjanti tal-patata volontarji għandhom jiġu ttestjati għall-organizmu;

(c) immedjatament wara li tkun giet stabbilita l-kontaminazzjoni taht l-Artikolu 5(1)(a) u f'kull sena ta' tkabbir segwenti sa u inkluż l-ewwel sena li fiha huwa permess staġun ta' hsad tal-patata fl-ghalqa (egħlieqi) meqjusa bhala kontaminati, kif dettaljat fil-paragrafu (a), il-makkinarju kollu u l-facilitajiet ta' hżin fuq il-post ta' produzzjoni u involut fil-produzzjoni tal-patata għandha titnaddaf u tiġi diżinfettata kif xieraq bl-użu ta' metodi xierqa, kif speċifikat fin-numru 3;

(d) f'dawn is-sistemi ta' produzzjoni fejn tibdil shih tal-mezzi ta' tkabbir huwa possibbli,

- ebda basal, pjanti jew żerriegħa vera ma għandha tinżera' sakemm l-unità ta' produzzjoni ma tkun sogġetta għal miżuri sorveljati uffiċjalment biex jeliminaw l-organizmu u jneħhu patata jew materjal tat-tip *solanaceous*, inkluż, ta' l-anqas, tibdil shih bil-*medium* li jkun qed jikber u tindif u disinfezzar ta' l-iniż ta' produzzjoni u l-ghodda kollha, u, wara tingħata l-approvazzjoni għall-produzzjoni tal-patata mill-korpi uffiċjali responsabbli, u
- il-produzzjoni tal-patata għandha tkun minn żerriegħa tal-patata ċertifikata uffiċjalment, jew minn basal żgħir jew minn pjanti ċkejna li ġejjin minn sorsi ttestjati;

4.2. fiż-żona demarkata, mingħajr preġudizzju għall-miżuri dettaljati taht l-4.1, l-Istati Membri għandhom:

(a) minnufih, u għal mill-anqas tliet staġuni ta' tkabbir, wara li tkun giet stabbilita kontaminazzjoni:

- jiżguraw sorveljanza mill-korpi uffiċjali responsabbli ta' l-istabbilimenti ta' tkabbir, hażna u tqandil tal-basal tal-patata, flimkien ma' l-istabbilimenti li jhaddmu l-makkinarju tal-patata taht kuntratt,
- jehtiegu tindif u diżinfekzzjoni tal-makkinarju u ta' l-imhażen, kif xieraq, u bl-użu ta' metodi xierqa, kif speċifikat taht in-numru 3,
- jehtiegu li tinżera' ż-żerriegħa ċertifikata biss għall-hsad tal-patata f'dik iż-żona,
- jehtiegu t-tqandil separat tal-hażniet taż-żerriegħa tal-hsad ta' daww għall-konsum fuq l-istabbilimenti fi hdan iż-żona,
- imexxu sħarriġ uffiċjali kif dettaljat fl-Artikolu 2(1);

(b) jistabbilixxu programm, fejn huwa xieraq, sabiex jinbidlu l-hażniet kollha taż-żerriegħa tal-patata fuq perijodu ta' żmien xieraq.

Il-miżuri implimentati taht 4.2, flimkien man-numri tar-reġistrazzjoni ta' daww li jipproduċu, imhażen kollettivi u ċentri li minnhom jintbagħtu fiż-żona demarkata, għandhom ikunu notifikat kull sena lill-Istati Membri u lill-Kummissjoni.