

Maisons-Alfort, le 14/11/2025

Conclusions de l'évaluation

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché par reconnaissance mutuelle de la société MIIM HORTICULTURE LIMITED pour le produit MIICROBIAL MASS PRO

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a notamment pour missions l'évaluation ainsi que la délivrance des décisions relatives aux autorisations de mise sur le marché (AMM) des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture.

Les « conclusions de l'évaluation » portent uniquement sur la vérification des informations communiquées relatives à l'absence d'effet nocif du produit sur la santé humaine, la santé animale et l'environnement dans les conditions d'emploi prescrites.

Le présent document ne constitue pas une décision.

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Anses a accusé réception d'une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) par reconnaissance mutuelle de la société MIIM HORTICULTURE LIMITED pour le produit MIICROBIAL MASS PRO, légalement mis sur le marché en Autriche.

Le produit MIICROBIAL MASS PRO se présente sous la forme d'une suspension aqueuse concentrée à base de *Bacillus velezensis* souche U47, *Bacillus velezensis* souche U50, *Bacillus megaterium* souche U48, *Bacillus megaterium* souche U49 et de *Bacillus licheniformis* souche U35.

Les effets revendiqués par le demandeur concernent la stimulation de la croissance des plantes, la solubilisation du phosphore augmentant la disponibilité du phosphore pour la plante, la solubilisation du calcium augmentant la disponibilité du calcium pour la plante, la production de sidérophores augmentant la disponibilité du fer et la production d'enzymes extracellulaires hydrolysant le substrat en sous-produits utiles pour les communautés microbiennes rhizosphériques.

L'évaluation de la présente demande est fondée sur la vérification par la Direction de l'Evaluation des Produits Réglementés (DEPR) du dossier déposé à l'Anses pour cette matière fertilisante, conformément aux dispositions du code rural et de la pêche maritime¹ et sur la base des recommandations proposées dans le guide relatif à l'évaluation des dossiers de demande relative à une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou à un permis pour des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture, mentionné à l'article 2 de l'arrêté du 1^{er} avril 2020².

Dans le cadre de cette demande par reconnaissance mutuelle, aucune vérification de l'efficacité agronomique n'est conduite par la DEPR.

Les données prises en considération sont celles soumises par le demandeur et jugées valides par la DEPR, ainsi que l'ensemble des éléments dont la DEPR a eu connaissance. Les conclusions relatives à la conformité des éléments présentés se réfèrent aux dispositions réglementaires nationales.

¹ Les principes de la mise sur le marché des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture sont définis dans le chapitre V du titre V du livre II du code rural et de la pêche maritime.

² Arrêté du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjuvants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation.

SYNTHESE DE L'INSTRUCTION

En ce qui concerne l'innocuité du produit, une vérification de la conformité aux critères définis en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020 est présentée ci-dessous.

De plus, dans le cadre de la vérification des informations communiquées relatives à l'absence d'effet nocif du produit MIICROBIAL MASS PRO sur la santé humaine, la santé animale et l'environnement dans les conditions d'emploi prescrites pour ce produit et afin de limiter les expositions et les risques pour la santé humaine, la santé animale et l'environnement, la DEPR s'est appuyée sur des évaluations existantes dans ces domaines, afin de proposer les mesures de gestion pour la protection de la santé humaine, de la santé animale et de l'environnement et les conditions d'emploi définies ci-dessous.

Informations relatives aux micro-organismes composant le produit

Le demandeur déclare que les micro-organismes composant le produit MIICROBIAL MASS PRO sont *Bacillus velezensis* souche U47, *Bacillus velezensis* souche U50, *Bacillus megaterium* souche U48, *Bacillus megaterium* souche U49 et de *Bacillus licheniformis* souche U35.

Le demandeur précise que la technique d'identification de chacun de ces micro-organismes est basée sur l'identification morphologique des colonies mises en croissance sur des milieux spécifiques et vérifier par séquençage de l'ARN 16S et du gène GyrB. Des données ont été soumises mais ne sont pas considérées comme complètes pour confirmer l'identification des souches. Des données, notamment l'analyse phylogénétique, pour valider la pertinence des séquences sélectionnées lors de l'amplification par PCR³, en vue de discriminer efficacement les différentes souches de *Bacillus* auraient été nécessaires. Une méthode moléculaire spécifique et discriminante permettant une identification à la souche de chacun des 5 micro-organismes devra être rendue disponible sur demande.

Les antibiogrammes soumis montrent que *Bacillus velezensis* souche U47, *Bacillus velezensis* souche U50, *Bacillus megaterium* souche U48, *Bacillus megaterium* souche U49 et *Bacillus licheniformis* souche U35 sont bien sensibles à des antibiotiques.

Le demandeur indique que *Bacillus velezensis* souche U47, *Bacillus velezensis* souche U50, *Bacillus megaterium* souche U48, *Bacillus megaterium* souche U49 et *Bacillus licheniformis* souche U35 sont conservées et enregistrées auprès de l'Institut Leibniz (Collection allemande de micro-organismes et de cultures cellulaires (DSMZ)) respectivement sous les numéros DSM 34433, DSM 34576, DSM 34562, DSM 34563 et DSM 34432.

Bacillus megaterium, *Bacillus velezensis* et *Bacillus licheniformis* sont inscrites à la liste de présomption d'innocuité reconnue (QPS) de l'EFSA. Toutefois, le statut QPS de chacune de ces bactéries doit être confirmé : ces bactéries ne doivent pas présenter de gènes de résistance à des antibiotiques utilisés en médecine humaine ou animale, ni présenter de toxigénicité. Aucune donnée n'a été soumise dans le cadre de ce dossier. Par conséquent le statut QPS de *Bacillus megaterium*, *Bacillus velezensis* et *Bacillus licheniformis* ne peut être confirmé.

Aucune donnée concernant la pathogénicité et l'infectiosité des micro-organismes composant le produit MIICROBIAL MASS PRO et aucune recherche bibliographique n'ont été soumises par le demandeur. Par ailleurs, une recherche dans la littérature scientifique conduite par l'Anses n'a pas identifié de publications mettant en évidence un caractère pathogène pour *Bacillus megaterium*, *Bacillus velezensis* ou *Bacillus licheniformis*. En revanche, des cas d'infections liés à *Bacillus licheniformis* et *Bacillus megaterium* chez des patients immunodéprimés et des personnes âgées ont été identifiés (Ameur *et al.*, 2021⁴, La Jeon Y *et al.* 2012⁵, Blue SR *et al.* 1995⁶ et Guo J *et al.*, 2024⁷).

³ PCR : Polymerase Chain Reaction (ou encore ACP pour Amplification en Chaîne par Polymérase)

⁴ Ameur, Mustapha & Dubrous, P. & Koeck, Jean-Louis. (2005). *Bacillus licheniformis* : agent causal d'érysipèle. *Medecine Et Maladies Infectieuses - MED MAL INFEC.* 35. 417-418. 10.1016/j.medmal.2005.04.007

⁵ La Jeon Y, Yang JJ, Kim MJ, Lim G, Cho SY, Park TS, Suh JT, Park YH, Lee MS, Kim SC, Lee HJ. Combined *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* infection in a patient with oesophageal perforation. *J Med Microbiol.* 2012 Dec;61(Pt 12):1766-1769. doi: 10.1099/jmm.0.042275-0. Epub 2012 Aug 23. PMID: 22918867.

⁶ Blue SR, Singh VR, Saubolle MA. *Bacillus licheniformis* bacteremia: five cases associated with indwelling central venous catheters. *Clin Infect Dis.* 1995 Mar;20(3):629-33. doi: 10.1093/clinids/20.3.629. PMID: 7756487.

⁷ Guo J, Chen J, Sun X. *Bacillus megaterium* infection presenting as pulmonary alveolar proteinosis, a case report. *BMC Infectious Diseases.* 2024;24:868. DOI:10.1186/s12879-024-09713-2 BioMed Central

En ce qui concerne la production de métabolites secondaires, les données soumises sur le criblage des séquences d'ADN connues pour produire des toxines chez les espèces *Bacillus* sont considérées insuffisantes. En effet, aucune information et aucune méthodologie n'ont été soumises par le demandeur. Par conséquent, l'absence de la production de métabolites secondaires, potentiellement toxiques chez ces bactéries ne peut pas être démontrée.

Par ailleurs, une recherche dans la littérature scientifique conduite par l'Anses n'a pas identifié de publications mettant en évidence un caractère endophyte pour *Bacillus megaterium*, *Bacillus velezensis*. En revanche, *Bacillus licheniformis* peut être considérée comme une bactérie endophyte (Nigris *et al.*, 2018⁸).

Toutefois, des données ont été soumises sur l'évaluation du caractère endophyte des différentes souches bactériennes présentes dans le produit. Le protocole a été conduit à partir de racines de tomate et suit les recommandations décrites dans la publication de Sahu *et al.* (2022)⁹. Il conclut à l'absence de nature endophyte de l'ensemble des *Bacillus* présents dans le produit, pour la tomate.

Ainsi, considérant qu'aucune donnée permettant de démontrer l'absence de production de métabolites secondaires potentiellement toxiques par l'ensemble des *Bacillus* composant le produit MIICROBIAL MASS PRO, n'a été soumise par le demandeur, il existe une incertitude par rapport à la présence et la toxicité de ces molécules, ne permettant pas d'identifier l'intégralité des dangers. Les risques pour le consommateur ne peuvent donc être exclus et des mesures de gestion sont donc proposées.

Conformité aux critères de l'arrêté du 1^{er} avril 2020

Eléments traces métalliques (ETM)

Les teneurs en As, Cd, Cr total, Cr VI, Hg, Ni, Cu, Zn et Pb respectent les teneurs maximales pour les matières fertilisantes définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les teneurs en composés traces organiques respectent la teneur maximale (somme de 16 HAP) pour les matières fertilisantes définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

Microbiologie

Les résultats des analyses microbiologiques montrent que le produit respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

Flux définis dans le guide relatif à l'évaluation des dossiers de demande¹⁰

Les teneurs en ETM, PCB¹¹ et HAP permettent de respecter les flux définis pour la mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi revendiquées.

Condition/durée de stockage

Le demandeur déclare dans son projet d'étiquette que les conditions/durées de stockage sont les suivantes : « *Stocker le produit dans son emballage d'origine dans un endroit frais (maximum 50°C). Protéger de la chaleur et du soleil. Stocker à l'abri des agents oxydants. Éviter les fluctuations de température* ».

⁸ Nigris, S., Baldan, E., Tondello, A. et al. Biocontrol traits of *Bacillus licheniformis* GL174, a culturable endophyte of *Vitis vinifera* cv. Glera. BMC Microbiol 18, 133 (2018).

⁹ Sahu PK, Tilgam J, Mishra S, Hamid S, Gupta A, K J, et al. Surface sterilization for isolation of endophytes: Ensuring what (not) to grow. J Basic Microbiol. 2022; 62: 647–668. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100462>

¹⁰ Guide relatif à l'évaluation des dossiers de demande relative à une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou à un permis pour des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture» mentionné à l'article 2 du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjuvants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation.

¹¹ PCB = polychlorobiphényle

CONCLUSIONS

Dans le tableau suivant, la conformité aux dispositions réglementaires nationales relatives à l'innocuité est indiquée, usage par usage, et sous réserve des conditions d'emploi décrites ci-après.

I. Usages proposés

Cultures	Dose maximale d'apport	Nombre maximum d'apports par an	Application	Epoque d'apport	Conclusions
Cultures légumières (Légumes fruits : (tomate, poivron, concombre,))	Semis et greffes : 0,25 ml/L Stade végétatif et de production : 0,5 ml/L	18	Apport au sol (Ferti-irrigation)	Levée ou plantation Puis répéter l'application toutes les 2 ou 3 semaines après la première application.	Conforme
Cultures légumières, (Légumes feuilles : laitue, herbes et autres feuilles vertes,)	Semis et greffes : 0,1 ml/L Stade végétatif et floraison : 0,25 ml/L	5		Levée ou plantation Puis répéter l'application toutes les 4 ou 5 semaines après la première application	Conforme
Cultures ornementales (Fleurs en pot)	Semis et greffes : 0,1 ml/L Stade végétatif et floraison : 0,25 ml/L	5		Levée ou plantation (température du sol supérieure à 15°C) Puis répéter l'application toutes les 4 ou 5 semaines après la première application	Conforme
Grandes cultures et cultures légumières (fraises, laitues, pommes de terre, maïs, céréales, brocolis,)	1,5 L/ha	5		Levée ou plantation (température du sol supérieure à 15°C) Puis répéter l'application toutes les 4 ou 5 semaines après la première application.	Conforme
Gazon	1,2 L/ha	6		Levée ou plantation (température du sol supérieure à 15°C) Puis répéter l'application toutes les 4 ou 5 semaines après la première application.	Conforme

II. Éléments de marquage obligatoire

Paramètres déclarables	Valeurs minimales garanties (sur produit brut)
Matière sèche	0.5%
<i>Bacillus velezensis</i> souche U47	8.10 ⁷ ufc*/g
<i>Bacillus velezensis</i> souche U50	8.10 ⁷ ufc*/g
<i>Bacillus megaterium</i> souche U48	8.10 ⁷ ufc*/g
<i>Bacillus megaterium</i> souche U49	8.10 ⁷ ufc*/g
<i>Bacillus licheniformis</i> souche U35	8.10 ⁷ ufc*/g

* ufc = unités formant colonies

III. Classification du produit au sens du règlement (CE) n° 1272/2008, proposée dans la fiche de données de sécurité

Sans classement

L'étiquette devra porter la mention « Contient *Bacillus velezensis*, *Bacillus megaterium* et *Bacillus licheniformis*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation ».

Ne pas utiliser par des personnes immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.

Ne pas appliquer le produit après formation des parties consommables pour les cultures dont celles-ci peuvent entrer en contact avec le sol.

IV. Conditions d'emploi

Port de gants et d'un vêtement de protection appropriés, ainsi qu'un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3 pendant toutes les phases de manipulation du produit et du traitement^{12 13}.

V. Dénomination de classe et de type proposée

Matière fertilisante - Préparation bactérienne : concentré soluble à base de *Bacillus velezensis* souche U47, *Bacillus velezensis* souche U50, *Bacillus megaterium* souche U48, *Bacillus megaterium* souche U49 et *Bacillus licheniformis* souche U35.

Pour le directeur général, par délégation,
le directeur,
Direction de l'évaluation des produits réglementés

¹² Il est de la responsabilité du demandeur d'indiquer avec précision le type d'EPI (équipement de protection individuelle) en fonction des tâches à effectuer, ainsi que leur gestion (utilisation, nettoyage, stockage).

¹³ En ce qui concerne l'utilisation du produit par des utilisateurs non-professionnels, considérant l'absence d'information soumise, il n'est pas possible de s'assurer du port effectif et de la gestion des Equipements de Protection Individuelle (EPI) par les utilisateurs non-professionnels.