



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 15 juillet 2025

Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à un projet de cahier des charges relatif à la multiplication de micro-organismes endogènes du sol et leur utilisation en tant que matière fertilisante à effet biostimulant

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux, l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments et, en évaluant l'impact des produits réglementés, la protection de l'environnement.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du Code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 24 septembre 2024 par la Direction générale de l'alimentation du Ministère chargé de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire, pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à un projet de cahier des charges relatif à « la multiplication de micro-organismes endogènes du sol et leur utilisation en tant que matière fertilisante à effet biostimulant » (annexe 1).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le plan de souveraineté nationale pour la filière fruit et légumes prévoit des mesures visant, dans le cadre de la protection des cultures, à faciliter le recours à certains « biostimulants » pour lesquels la procédure d'AMM n'est pas adaptée compte tenu des particularités inhérentes à leur mode de fabrication. Un cahier des charges pris en application du 3° de l'article L.255-5 du code rural et de la pêche maritime permet de faciliter la mise sur le marché de ces produits.

Dans ce cadre, la demande du ministère concerne un projet de cahier des charges (désigné CDC dans le présent avis) établissant les critères de conformité applicables à la fabrication d'une matière fertilisante, élaborée par amplification de micro-organismes d'intérêt agronomique isolés d'un échantillon de sol provenant d'une parcelle exploitée par l'utilisateur final et destinée à être appliquée uniquement sur les sols exploités par ce même utilisateur. Ce cahier des charges est destiné à des utilisateurs professionnels uniquement. Il précise les matières premières utilisables ainsi que les procédés de fabrications, les autocontrôles et les restrictions d'usage.

La mise sur le marché d'une matière fertilisante via un cahier des charges est notamment encadrée par les articles L. 255-5 tiret 3 et R. 255-29 du code rural et de la pêche maritime, ce dernier précisant que le cahier des charges mentionné au point 3 de l'article L. 255-5 est approuvé par arrêté du ministre chargé de l'agriculture, après avis de l'Agence.

Ainsi, l'approbation d'un cahier des charges intervient à l'issue d'une évaluation, conduite par l'Anses, de l'innocuité et de l'efficacité des matières fertilisantes objets du cahier des charges. Les matières fertilisantes conformes à ce cahier des charges sont dispensées d'évaluation individuelle et donc de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) prévu à l'article L.255-2 du code rural et de la pêche maritime.

Dans ce cadre, il est demandé à l'Agence de donner son avis sur le projet de CDC, afin de s'assurer que les PRODUITS fertilisants qui lui seront conformes présentent un niveau de sécurité justifiant une autorisation en dispense d'évaluation individuelle préalable. Il est demandé à l'Agence de porter une attention plus particulière aux matières premières utilisables ainsi qu'aux procédés de fabrications, aux autocontrôles et aux restrictions d'usage qui doivent permettre d'assurer l'innocuité des préparations produites en conformité à ce projet de CDC.

A l'appui de cette demande, seul le projet de CDC (annexe 2) a été mis à disposition de l'Anses. Aucun autre document n'a été soumis.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Janvier 2024) ».

L'expertise a été conduite par les unités concernées de la Direction d'évaluation des produits réglementés (DEPR) en collaboration d'experts du Comité d'Experts Spécialisé « Matières Fertilisantes et Supports de Culture » (CES MFSC).

L'expertise s'est seulement appuyée sur le contenu des documents soumis par le ministère chargé de l'agriculture (annexe 2).

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Aucun conflit d'intérêts n'a été identifié par l'Agence dans le cadre de la présente saisine.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

Après consultation et avec l'accord du Comité d'experts spécialisé "Matières fertilisantes et supports de culture", réuni le 19 juin 2025, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet les conclusions, propositions et recommandations suivantes.

3. ANALYSE DU CES

Le projet de CDC transmis par le ministère (annexe 2) a été examiné et la synthèse des éléments scientifiques essentiels qui conduisent aux propositions et recommandations émises par l'Agence (partie 4) est présentée ci-dessous.

Seuls les chapitres et les titres du projet de CDC faisant l'objet de commentaires et figurant en italique sont présentés ci-après.

Commentaires :

Dans la partie introductive du cahier des charges (page 3), il conviendrait de préciser que le cahier des charges s'adresse uniquement à des utilisateurs professionnels.

1. DEFINITIONS

Préparation microbienne

Au sens de ce cahier des charges, une préparation microbienne est constituée essentiellement d'espèces de champignons endomycorhiziens ou de bactéries multipliées par une mise en culture sur milieu spécifique permettant la sélection des micro-organismes recherchés.

Les micro-organismes qui composent la préparation microbienne respectent les critères suivants :

- ils sont naturellement présents dans le sol de la parcelle à partir de laquelle ils ont été prélevés ;*
- ils ont un intérêt agronomique ;*
- ils ne sont pas susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme et par conséquent classés dans le groupe 1 conformément aux dispositions de l'article R. 4421-3 du Code du travail.*

Dans ce cahier des charges, la préparation microbienne qui respecte les critères d'innocuité pour la santé et l'environnement définis au paragraphe 4 de ce cahier des charges est dénommée « produit ».

Les préparations microbiennes peuvent être de 3 catégories :

- **Les préparations endomycorhiziennes (PEM)** qui sont des préparations microbiennes composées essentiellement de propagules d'espèces de champignons endomycorhiziens. Le produit ainsi fabriqué est dénommé « PEM – (suivi de l'indication des fonctions agronomiques telles que listées au 3.2.1 du présent cahier des charges et la liste des espèces de champignons endomycorhizes endogènes) ; fabriquée à partir d'extraits de sol de la parcelle X (indiquer nom, coordonnées, indications GPS) ».*
- **Les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF)** qui sont des préparations microbiennes composées essentiellement d'espèces bactériennes. Le produit ainsi fabriqué est dénommé « PBF – (suivi de l'indication des fonctions agronomiques telles que listées au 3.2.1 du présent cahier des charges et la liste des espèces bactériennes) ; fabriquée à partir d'extraits de sol de la parcelle X (nom, coordonnées, indications GPS) ».*
- **Le mélange des deux catégories précédentes est autorisé après leur production décrite au paragraphe 3.***

Commentaires :

Il conviendrait de définir les différents acteurs liés au présent CDC (fabricants, utilisateurs finaux, propriétaires des exploitations, exploitants...) et de préciser la responsabilité de chacun, en ce qui concerne, le prélèvement, la sélection et la multiplication, la vérification des critères d'innocuité, l'application ou encore les éventuels problématiques sanitaires pouvant découler de la fabrication et/ou de l'utilisation du ou des PRODUIT(S).

Le mélange des préparations microbiennes (PEM) et des préparations bactériennes fonctionnelles (PBF) étant a priori autorisé par le CDC, il conviendrait pour éviter toute confusion de modifier le « ou » en « et/ou » du première paragraphe et d'en revoir sa rédaction :

« Au sens de ce cahier des charges, une préparation microbienne est constituée essentiellement d'espèces de champignons endomycorhiziens et/ou de bactéries multipliés par une mise en culture sur milieux et conditions adaptés favorisant la sélection des micro-organismes recherchés ».

Il conviendrait de définir ce qui est entendu par « essentiellement » dans la phrase « une préparation microbienne est constituée essentiellement d'espèces de champignons endomycorhiziens et/ou de bactéries multipliés ».

Il conviendrait d'ajouter à la définition des préparations microbiennes, le fait que les micro-organismes qui composent la préparation microbienne ne doivent pas non plus être phytophages.

Il pourrait également être fait un renvoi au point 3 du CDC (Fabrication du PRODUIT) en ce qui concerne la « mise en culture sur milieu spécifique permettant la sélection des micro-organismes recherchés ».

Par ailleurs, il est fait référence dans cette partie à des critères d'innocuité pour la santé et l'environnement définis au paragraphe 4 du CDC. Cependant, le paragraphe 4 ne mentionne aucun critère d'innocuité notamment pour l'environnement. En conséquence en absence d'indications/critères définis, une incertitude élevée existe sur la vérification de l'innocuité pour l'environnement.

Pour les préparations endomycorhiziennes (PEM), il est spécifiquement fait mention que les PEM sont fabriquées à partir d'extraits de sol alors que dans le chapitre 3.2.1.2 il est fait mention des fragments de racines de plantes mycorhizées. Il conviendrait de le préciser également dans ce chapitre.

Ce chapitre liste plusieurs critères à respecter pour les micro-organismes composant les préparations microbiennes et notamment la limitation aux micro-organismes classés dans le groupe 1 (agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme) conformément aux dispositions de l'article R. 4421-3 du Code du travail.

En ce qui concerne la sélection des micro-organismes recherchés les conditions de mise en culture et d'obtention du PRODUIT devraient être plus clairement définies.

2. CHAMP D'APPLICATION

Commentaires :

Il pourrait être envisagé que le ou les PRODUIT(S), élaboré(s) à partir d'un échantillon de sol provenant d'une parcelle spécifique d'une l'exploitation, puisse(nt) être apporté(s) sur les sols de la parcelle dans laquelle l'échantillon de sol a été prélevé et/ou sur les sols de plusieurs parcelles appartenant à cette même exploitation. Cette dernière possibilité doit être conditionnée aux respects des critères retenus en annexe IV pour vérifier l'innocuité des PRODUITS.

3. FABRICATION DU PRODUIT

3.1 Indications préalables à la fabrication du produit

3.1.1 Méthode de prélèvement de sol

Le sol nécessaire à la fabrication d'un produit correspond à un échantillon composite constitué du mélange d'au moins 10 prélèvements de 1kg effectués par carottage de l'horizon 0-20 cm. L'échantillon prélevé sur une parcelle cultivée peut intégrer des prélèvements racinaires lorsque la recherche de champignons endomycorhiziens est ciblée sur la culture en place.

Chaque prélèvement de sol peut être effectué sur sol nu ou sol couvert et ceci quel que soit le type de culture mise en place.

Chaque échantillon composite de sol est référencé avec les informations suivantes :

- numéro de parcelle ou d'îlot cultural ;
- dénomination, adresses, si disponible ;
- zone de prélèvement (coordonnées GPS) ;

L'échantillon composite de sol est stocké à l'abri des intempéries dans un lieu dédié et clos de manière à prévenir tout risque de « dégradation » ou de « contamination » susceptible de le rendre impropre à son utilisation. Il peut être stocké au maximum 7 jours à température n'excédant pas une moyenne de 20°C +/- 5°C avant le début de la phase d'extraction des micro-organismes. La fraction de sol non utilisée doit être retournée à la parcelle dont elle est issue ou éliminée selon la réglementation en vigueur.

Commentaires :

Lorsque des procédures normées, relatives notamment aux méthodes de prélèvements et/ou d'échantillonnages de sols, existent, il conviendrait de les appliquer.

En ce qui concerne l'échantillonnage, le nombre des prélèvements pourrait être ajusté à la taille de la parcelle dans laquelle ils sont prélevés et à son hétérogénéité.

Il est recommandé de procéder à l'amplification à partir d'un échantillon de sol dans les meilleurs délais après prélèvement. Le CDC indique que l'échantillon de sol peut être stocké au maximum 7 jours à température n'excédant pas une moyenne de 20°C +/- 5°C avant le début de la phase d'extraction des micro-organismes.

En absence d'information sur les conditions de stockage proposés et sur les effets potentiels du stockage sur les PRODUITS, le niveau d'incertitude sur les effets potentiels liés au stockage est élevé.

3.1.3.1 Plantes hôtes pour la mise en culture

Dans le cadre de la production de PEM, la phase de multiplication en fermenteur peut être précédée d'une phase de développement en présence de plantes hôtes. Dans ce cahier des charges, seuls sont autorisés les graines ou plants d'origine géographique connue et exempts de restrictions sanitaires ou phytosanitaires et non génétiquement modifiées (OGM).

Commentaires :

Il conviendrait de préciser les conditions de cultures des plantes hôtes en portant une attention particulière au fait que les graines doivent être stérilisées et les conditions de cultures des plantes hôtes axénique.

3.1.3.2 Matériaux inertes

La mise en culture de ces plantes hôtes pour une préparation endomycorhizienne (PEM) doit être réalisée uniquement sur des matériaux inertes de type sable ou perlite.

Commentaires :

La possibilité d'utiliser également par exemple des sols stérilisés pourrait être ajouté à l'utilisation de la perlite et du sable, de même, que d'autres matériaux inertes comme par exemple la vermiculite.

3.1.3.3 Solutions nutritives pour la multiplication microbienne

Le procédé de multiplication microbienne peut nécessiter l'apport d'éléments nutritifs ou d'oligoéléments lors de sa mise en œuvre. Seuls les intrants suivants sont autorisés lors de la phase d'extraction des micro-organismes du sol ou la phase de multiplication:

❖ Pour la production de PEM :

- *Solutions d'engrais minéraux et oligoéléments conformes à une AMM ou à une dispense valide relevant d'une catégorie définie au 1 ; 2° ou au 3° de l'article L. 255-5 du CRPM ;*
- *Solutions nutritives stérilisées et composées de sources de nutriments avec des numéros CAS identifiés pour chaque matière première composant la solution nutritive.*

❖ Pour la production de PBF :

- *Solutions nutritives stérilisées et composées de sources de nutriments avec des numéros CAS identifiés pour chaque matière première composant la solution nutritive.*

L'eau utilisée lors de la fabrication du produit doit être, au minimum, classée comme « Eau Destinée à la Consommation Humaine » conformément à :

- *La Directive 98/83/CE sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, transposée en droit français par le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 et modifiée par la directive 2015/1787 du 6 octobre 2015 ;*
- *L'arrêté du 30 décembre 2022 modifiant l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.*

Commentaires :

Il est identifié un intérêt pour la production des PBF à ce qu'il soit possible d'utiliser également de l'eau déminéralisée.

3.2 Les étapes du procédé de multiplication microbienne et de fabrication du produit

*Le fabricant élabore la « **Fiche procédé** » (Cf. annexe I) en veillant à décrire les différentes étapes résumées dans la Figure 1. Cette « **Fiche procédé** » est conservée par le fabricant au moins 5 années après la dernière fabrication conforme à cette fiche.*

*Sur la base de cette fiche le fabricant rédige une « **Fiche produit** », unique à chaque produit. Cette fiche est transmise au commanditaire. Elle contient les informations nécessaires à l'identification et à l'usage du produit tel que décrit au 5 (Cf. annexe II). Cette fiche est conservée pour une durée au moins égale à 5 ans après la date de livraison du produit à l'utilisateur.*



Commentaires :

Le protocole devrait plus détaillé : les méthodes d'extraction, les milieux et modes de culture pour l'isolement et les sélections, l'identification des micro-organismes cibles avant l'amplification, les milieux pour l'amplification (fermenteur/substrats avec l'ensemble des paramètres), les contrôles qualité tout au long du protocole, et détailler l'étape finale de fabrication des PRODUITS, par exemple existe-t-il une étape de lyophilisation ou de séchage.

En ce qui concerne l'étape 3 de l'élaboration de la « Fiche procédé » (figure 1 du CDC), en absence d'indications/critères relatifs au contrôle de l'innocuité indiqué, il existe une incertitude élevée sur la vérification de l'innocuité des PRODUITS finis, notamment pour les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF). Il conviendrait donc pour ces PRODUITS d'appliquer des mesures visant à limiter l'exposition et à informer les personnes vulnérables.

A noter que les champignons mycorhiziens sont inscrits à l'annexe II du règlement (UE) 2019/1009¹.

3.2.1 Etape 1 : Extraction et isolement

3.2.1.1 PBF : Préparation de l'inoculum composé d'espèces bactériennes fonctionnelles.

Pour les PBF, l'extraction de l'inoculum bactérien est réalisée à partir du mélange d'un échantillon composite de sol et de matières premières autorisées pour la fabrication telles que précisées au 3.1.4. L'extrait obtenu est mis en culture sur milieu d'isolement spécifique ciblant des fonctions bactériennes d'intérêts agronomiques telles que :

- La fixation d'azote,
- La solubilisation du phosphore,
- La solubilisation du fer,
- Toute propriété permettant d'améliorer la croissance et la nutrition des plantes à travers des fonctions microbiennes du sol.

Les espèces bactériennes isolées sur chaque milieu de culture sont sélectionnées pour leurs fonctions cibles.

¹ Règlement (UE) 2019/1009 du parlement européen et du conseil du 5 juin 2019 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE, modifiant les règlements (CE) n°1069/2009 et (CE) n°1107/2009 et abrogeant le règlement (CE) n° 2003/2003

Les informations nécessaires à la mise en culture des bactéries, les méthodes et la composition du milieu de culture et d'isolement des espèces bactériennes doivent être renseignées dans la « Fiche procédé ».

Commentaires :

Il est à noter qu'en ce qui concerne l'isolement des bactéries symbiotiques (comme les bactéries fixatrices d'azote par exemple), les milieux de cultures sélectionnent plutôt des groupes de bactéries et non des fonctions, comme la fixation de l'azote.

Il conviendrait d'ajouter que des plantes ou des parties de plantes peuvent également être utilisées à cette étape (pour l'isolement des bactéries fixatrices d'azote par exemple).

Il conviendrait par ailleurs de détailler l'ensemble des étapes (exactions/sélections/identifications...). Lorsque des procédures normées existent, il conviendrait de les appliquer.

Il convient de s'assurer que les milieux d'isolement sont parfaitement sélectifs et ne sont pas susceptibles de sélectionner des micro-organismes pouvant présenter un danger pour l'homme et l'environnement.

3.2.1.2 PEM : Préparation de l'inoculum composé d'espèces d'endomycorhizes viables

Pour les PEM, la préparation débute par une étape de tamisage à l'eau des fractions de sol avec racines afin de récupérer les spores de champignons endomycorhiziens. Les spores récupérées sont mélangées aux racines préalablement lavées et broyées entre 1-2mm. Cette préparation constitue l'inoculum de propagules de champignons endomycorhiziens à amplifier.

Les informations nécessaires à l'isolement des spores d'endomycorhizes, les méthodes utilisées doivent être renseignées par le fabricant dans la « Fiche procédé ».

Commentaires :

Cette première étape mériterait d'être davantage détaillée : taille des tamis utilisés, taille des fractions récupérées suite au tamisage, utilisation de cultures piéges, types de racines auxquels les spores récupérés suite au tamisage sont mélangés.

3.2.1.3 Analyses à réaliser sur l'inoculum de PEM et PBF au niveau de l'étape 1

Les inocula de PEM et PBF ainsi préparés doivent être **caractérisés par une analyse microbienne** afin de déterminer :

- *Pour les PEM : le nombre de spores viables et la diversité des espèces de champignons endomycorhiziens (méthode metabarcoding² ou équivalent) avant de passer à l'étape de multiplication. Les méthodes d'analyse de la concentration en spores et d'identification des espèces de champignons d'endomycorhize à amplifier sont précisées en 0 et en 0 respectivement et sont à renseigner par le fabricant dans la « Fiche procédé » et dans celle de chaque produit.*
- *Pour les PBF : la concentration en espèces bactériennes ciblées et la diversité des espèces bactériennes fonctionnelles (méthode metabarcoding ou équivalent). Les méthodes d'analyses de la concentration et d'identification des espèces bactériennes fonctionnelles sont précisées en 0 et en 0 respectivement et sont à renseigner par le fabricant dans la « Fiche procédé ».*

Cette caractérisation permet de s'assurer du nombre et de la nature des espèces microbiennes présentes dans l'inoculum et de les relier aux fonctions agronomiques recherchées.

Commentaires :

Il conviendrait de préciser à cette étape qu'une attention particulière doit être portée à ne pas sélectionner de bactéries pouvant présenter un risque pour l'homme et l'environnement ni de micro-organismes phytopathogènes, seuls doivent être sélectionnées les micro-organismes appartenant au groupe 1 uniquement (agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme - article R. 4421-3 du Code du travail).

² Le métabarcoding est un séquençage à haut débit qui permet, grâce à des marqueurs standards ou spécifiques ciblant des genres ou espèces, d'identifier les micro-organismes dans un échantillon

3.2.2 Etape 2 : Multiplication des micro-organismes endogènes à la parcelle

3.2.2.1 Etape 2 - PBF : Procédé de multiplication bactérienne

Le procédé consiste à multiplier en conditions contrôlées les micro-organismes présents dans l'inoculum. Le milieu de culture peut être complémenté des matières premières autorisées (Cf. § 3.1.4). Les conditions de multiplication (température, durée de culture, etc.) ainsi que les indicateurs de mesure assurant le bon déroulement du procédé de multiplication tels que le pH, le potentiel Redox etc. doivent être définis par le fabricant et figurer dans chaque « Fiche procédé ».

Commentaires :

Il pourrait être précisé que « le procédé consiste à multiplier **de façon sélective** en conditions contrôlées les micro-organismes **d'intérêts agronomiques recherchés** présents dans l'inoculum ».

Il conviendrait de s'assurer que les milieux de multiplication des micro-organismes d'intérêt soient suffisamment sélectifs pour ne pas multiplier les micro-organismes pouvant présenter un danger pour l'homme et l'environnement.

3.2.2.2 Etape 2 - PEM : Procédé de multiplication des champignons endomycorhiziens

La multiplication des champignons endomycorhiziens se déroule par la mise en culture, en enceinte climatique ou en serre, des inocula de PEM avec des graines ou des plants hôtes, dans des pots ou autres contenants, complémentés avec les matières premières autorisées (Cf. § 3.1.4). La durée de la culture nécessaire à l'installation de la mycorhization doit être supérieure à 2 mois.

Les conditions de multiplication (température, intensité lumineuse, humidité, temps de culture, ...) ainsi que les indicateurs assurant le bon déroulement du procédé de multiplication en lien avec le substrat de culture, le développement et la santé de la plante hôte ainsi que sa mycorhization sont inscrits dans la « Fiche procédé ».

Commentaires :

Il conviendrait de s'assurer que les milieux de multiplication des micro-organismes d'intérêt soient suffisamment sélectifs pour ne pas multiplier les micro-organismes pouvant présenter un danger pour l'homme et l'environnement.

3.2.3 Etape 3 : finalisation du produit

3.2.3.1 Fabrication des PEM

La fabrication des PEM issues du procédé de multiplication est réalisée selon trois phases :

- Broyage des racines préalablement séparées du substrat de culture et tamisage du substrat de culture à 2mm ;
- Mélange du substrat < 2 mm avec les racines broyées ;
- Apport d'un matériau inerte (sable par exemple) au mélange préparé (broyat racinaire et substrat tamisé) pour atteindre la concentration finale, selon les critères définis au paragraphe 0 du CDC, en nombre de spores viables des espèces de champignons endomycorhiziens amplifiées.

La fabrication des PEM est finalisée par le conditionnement de la préparation stabilisée dans des contenants adaptés et fermés hermétiquement (Cf. § 3.2.7).

Commentaires :

Le stockage dans un conditionnement hermétiquement fermé n'est pas recommandé en raison de l'activité biologique au sein de l'inoculum.

3.2.4 Diversité des espèces microbiennes

PEM : Le nombre, le genre et l'espèce (si disponible pour cette dernière) de chaque champignon endomycorhizien isolé et multiplié pour la fabrication du produit doivent être fournis par le fabricant et indiqués dans la « Fiche produit » lors de sa livraison.

PBF : Le nombre, le genre et l'espèce (si disponible pour cette dernière) de chaque souche bactérienne isolée et multipliée pour la fabrication du produit doivent être fournis par le fabricant et indiqués dans la « Fiche produit » lors de la livraison.

Les analyses du nombre d'espèces composant les PBF ou les PEM peuvent être réalisées sur un seul échantillon représentatif du produit.

Commentaires :

En ce qui concerne la diversité des micro-organismes pouvant être présents dans les PRODUITS, en l'absence d'informations précises relatives à l'identification spécifique de chacun des micro-organismes pouvant composer chaque PRODUITS, il existe une incertitude élevée liée à l'innocuité de ces PRODUITS (notamment pour les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF)). Il conviendrait donc pour ces PRODUITS d'appliquer des mesures visant à limiter l'exposition et à informer les personnes vulnérables.

3.2.6 Conditionnement des produits

Les produits peuvent faire l'objet d'une stabilisation afin de préserver leurs propriétés jusqu'à leur utilisation sur la parcelle. Les méthodes de stabilisation peuvent correspondre à la déshydratation, la congélation, la lyophilisation, l'apport de substrat inerte (sable), l'incorporation de sulfites, la mise en place d'atmosphère modifiée ou tout autre traitement équivalent. L'incorporation de matériau stabilisant ne peut excéder 5% m/m ou v/v du produit brut.

La fabrication des PBF issues du procédé de multiplication est finalisée par le conditionnement de la préparation microbienne amplifiée et stabilisée dans des contenants adaptés de sorte que la reprise de croissance ou les réactions de fermentation soient limitées. Pour prévenir tout risque de contamination, le produit est stocké dans des contenants étanches et fermés hermétiquement permettant de l'isoler de son environnement jusqu'à sa mise sur le marché.

Ces informations sont inscrites sur la « Fiche produit » et la « Fiche procédé ». Le produit conditionné doit atteindre la concentration finale en nombre d'espèces bactériennes fonctionnelles telle que définie au paragraphe 0 du cahier des charges, jusqu'à son utilisation par l'utilisateur final. Si besoin une date limite d'utilisation est établie.

Commentaires :

L'Anses s'interroge sur la possibilité d'utiliser des sulfites (conservateurs) pour stabiliser les PRODUITS. Ainsi, il convient de s'assurer que leur utilisation ne nuise pas aux bactéries ou champignons d'intérêt sélectionnés.

Le stockage dans un conditionnement hermétiquement fermé, n'est pas recommandé en raison de l'activité biologique au sein de l'inoculum.

3.3 Le stockage du produit et les conditions de livraison du produit

Le stockage du produit est réalisé dans des lieux dédiés à cet usage et le principe de « marche en avant » est respecté afin d'exclure la rencontre des matières entrantes et des produits en fabrication jusqu'à leur mise sur le marché et ainsi prévenir tout risque de contamination croisée.

Le stockage d'un produit avant son application est possible et peut s'avérer nécessaire selon le délai prévisible entre la date du prélèvement de sol nécessaire pour fabriquer le produit et celle de l'application à la parcelle. La durée de stockage est de 6 mois maximum à compter de la date de fin de fabrication du produit, sauf si une date limite d'utilisation plus courte a été établie. Cette durée maximale de stockage est validée par une vérification de la conformité du produit en fin de stockage en termes d'innocuité et de qualité selon les critères définis en autocontrôle (chapitre 5) du présent cahier des charges.

Commentaires :

En l'absence d'informations/données, il est difficile de se prononcer sur une durée maximale de stockage des PRODUITS.

4.1 Contrôle de la qualité du « produit »

Le fabricant respecte les critères d'innocuité des MFSC définis par voie réglementaire aux articles D. 255-1-1 et D. 255-1-2 du CRPM, que ce soit par la réalisation des analyses de contaminants requises par lesdits articles ou par la démonstration que le plan d'assurance qualité mis en place et le procédé de fabrication utilisé permettent de respecter ces critères. Le fabricant tient à disposition des autorités compétentes les preuves de l'innocuité du produit.

Le fabricant s'assure que la concentration ou la dose de chacune des espèces microbiennes (PBF et PEM) contenues dans le produit fini ne soit pas susceptible d'engendrer un risque pour l'homme (consommateur) suite à son utilisation selon les modalités d'application préconisées. Lorsqu'elles sont disponibles, les concentrations ou doses de référence réglementaires ou communément admises pourront être utilisées pour conduire cette évaluation des risques pour les consommateurs.

Le produit doit satisfaire aux critères suivants :

- Respect des écarts autorisés pour les concentrations indiquées au § 0
- Respect des valeurs seuils en pathogènes indiquées au 1.

Tableau 1 : Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes dans le produit

	Taille de la prise d'échantillon représentatif du produit	n	m	M	c
<i>Échantillons représentatifs du produit</i>					
Escherichia coli ou Enterococaceae	1 g de matière brute (MB)	5	1 000	5 000	1
Salmonella spp.	25 g MB	5	0	0	0

- Avec :
- n = nombre d'échantillons à tester;
- m = valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m ;
- M = valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant dès lors que le nombre de bactéries dans au moins un échantillon est supérieur ou égal à M ;
- c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M , l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m .

Il est de la responsabilité du fabricant de s'assurer de l'innocuité du produit mis en marché jusqu'à la date d'utilisation recommandée (incluant un stockage éventuel).

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de respecter les conditions de stockage et d'usage du produit afin de garantir l'innocuité des denrées qu'il met sur le marché, conformément à l'article 1 du règlement (CE) n°852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.

Commentaires :

En ce qui concerne les teneurs en micro-organismes proposées dans le cadre du CDC (tableau 1), elles sont identiques à celles proposées dans le cadre du projet de réglementation dite « socle commun d'innocuité » pour la catégorie A1 pour les produits non microbiens et dans le cadre de la réglementation européenne (règlement UE 2019/1009) pour les PFC 6.B : Biostimulants non microbiens des végétaux.

Aucune information ne permet de justifier les seules analyses prévues par le tableau 1 du CDC.

Ainsi, il conviendrait d'apporter une clarification sur les analyses à réaliser pour vérifier l'innocuité et la conformité des PRODUITS dans le cadre de ce CDC. Le tableau 1 pourrait ainsi être supprimé et un renvoi à l'annexe IV fait, soit :

Le produit doit satisfaire aux critères suivants :

- Respect des écarts autorisés pour les concentrations indiquées au § 0
- Respect des valeurs seuils en micro-organismes pathogènes **indiquées en annexe IV**.

5. PRECONISATIONS D'USAGE

Les préconisations d'usages sont fournies à l'utilisateur avec la « Fiche produit ».

Seuls les usages mentionnés au Tableau 2 peuvent être préconisés.

Tableau 2 : Les usages autorisés en fonction des types de cultures.

Types de culture	Apport au sol	Dates d'apport
<i>Grandes cultures</i>	<i>Autorisé</i>	<i>Avant semis et/ou au moment du semis</i>
<i>Arboriculture / viticulture</i>	<i>Autorisé</i>	<i>Sous le rang et/ou Inter-rang</i>
<i>Cultures maraîchères</i>	<i>Autorisé</i>	<i>Avant semis et/ou au moment du semis</i>
<i>Culture intermédiaire non fourragère</i>	<i>Autorisé</i>	<i>Avant semis et/ou au moment du semis</i>
<i>Prairies et cultures fourragères</i>	<i>Autorisé</i>	<i>Avant semis et/ou au moment du semis Sur prairie permanente (1)</i>

(1) *A condition de respecter un délai de 21 jours avant la mise en pâture des animaux ou si les critères d'innocuité respectent les teneurs maximales indiquées dans les tableaux 1.1 et 1.2 de l'annexe IV*

Le fabricant préconise l'ensemble des mesures de gestion et d'application nécessaires pour garantir la sécurité des personnes et de l'environnement.

Commentaires :

En ce qui concerne les mesures de gestion et d'application, il conviendrait d'ajouter la mention « *Aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique ne devrait être faite sur le PRODUIT* ».

Par ailleurs, dans le cadre de ce CDC aucune information ne permet de justifier le délai proposé de 21 jours avant la mise en pâture des animaux, issu de la réglementation relative aux sous-produits animaux (article 11 du règlement (CE) n° 1069/2009³).

A noter que les champignons mycorhiziens sont inscrits à l'annexe II du règlement (UE) 2019/1009⁴.

Les critères d'innocuité fixés par le CDC, notamment pour les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF) pourraient ne pas être suffisants pour garantir la sécurité du consommateur pour l'ensemble des PRODUITS fabriqués selon le CDC. En effet, les PRODUITS sont susceptibles de contenir des micro-organismes pour lesquels en absence d'informations relatives à leur innocuité pour l'homme (pathogénicité, antibiogramme, caractère endophyte, production de métabolites secondaires potentiellement toxiques notamment), les risques notamment pour le consommateur ne peuvent être totalement exclus.

Les PRODUITS sont également susceptibles de contenir des micro-organismes phytopathogènes pouvant présenter des risques pour certaines cultures.

En ce qui concerne les mesures visant à limiter l'exposition des utilisateurs et des personnes vulnérables, il conviendrait de recommander les mesures de gestion suivantes :

- des mesures de protections collectives ou individuelles (EPI) appropriées visant à limiter ou éviter l'exposition au danger seraient à mettre en place.
- ne pas utiliser par les personnes immunodéprimées ou sous traitement immunsupresseur.
- préciser : « *Contient des micro-organismes. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation* ».

³ RÈGLEMENT (CE) No 1069/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 21 octobre 2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) n° 1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux

⁴ Règlement (UE) 2019/1009 du parlement européen et du conseil du 5 juin 2019 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE, modifiant les règlements (CE) n°1069/2009 et (CE) n°1107/2009 et abrogeant le règlement (CE) n° 2003/2003

6. ANNEXES

6.2 ANNEXE II : Fiche procédé et points de contrôle

Le fabricant doit fournir une « Fiche procédé » pour chaque procédé de fabrication en décrivant en détail les étapes de fabrication décrites au paragraphe 3.2, ainsi que les points de contrôle de la qualité de production.

Ces points de contrôle sont placés aux étapes 1 et 2 du procédé et doivent au minimum être mis en œuvre :

- i) Sur les matières premières pour vérifier l'absence de contamination microbienne de ces matières premières utilisables pour la mise en culture de l'échantillon de sol à amplifier en référence à l'Etape 1 du procédé. Plus précisément, le fabricant doit vérifier que les matières premières sont exemptes :
 - De signes de maladies sur les échantillons de racines prélevées à la parcelle pour l'extraction des spores de champignons endomycorhiziens,
 - De micro-organismes pour les milieux de culture utilisables lors de la multiplication des espèces bactériennes.
- ii) Lors de l'étape de multiplication des PEM en référence à l'étape 2 du procédé pour vérifier l'absence de contamination. Pour cela les contrôles doivent inclure
 - Une observation microscopique ou visuelle de signes de maladie sur les racines des plantes après culture dans le substrat (pot de culture) et avant extraction des spores d'endomycorhizes,
 - Une observation visuelle de la formation de filaments ou de pelotes de champignon dans le matériel de multiplication (fermenteur) et/ou une analyse sur milieu de culture pour champignon.
- iii) Sur le produit fini.

La liste des matières premières, les méthodes d'extraction, les milieux de culture pour l'isolement et l'amplification et les méthodes d'analyses doivent être décrites dans la « Fiche procédé ».

Commentaires :

Pour des raisons de traçabilité il conviendrait de préciser que la fiche « procédé et points de contrôle » doit être conservée pendant 5 ans.

6.4 ANNEXE IV : Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes pour les produits épandus sur prairies permanentes et ne respectant pas le délai de 21 jours avant la mise en pâture des animaux)

Tableau 1.1 : Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes dans le produit

	Taille de la prise d'échantillon représentatif du produit	n	m	M	c
Échantillons représentatifs du produit					
<i>Escherichia coli ou Enteroccaceae</i>	1 g de matière brute (MB)	5	1 000	5 000	1
<i>Salmonella spp.</i>	25 g MB	5	0	0	0

Avec :

n = nombre d'échantillons à tester;

m = valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas *m*;

M = valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant dès lors que le nombre de bactéries dans au moins un échantillon est supérieur ou égal à *M*;

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre *m* et *M*, l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à *m*.

Tableau 1.2 Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes

	Plan d'échantillonnage		Limite sur la matière brute
	n	c	
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Escherichia coli</i>	5	0	Absence dans 1 g ou 1 mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Vibrio</i> spp.	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Shigella</i> spp.	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Enterococcaceae</i>	5	2	10 UFC/g
Dénombrement sur plaque des germes anaérobies ⁽¹⁾	5	2	10 ⁵ UFC/g ou mL
Dénombrement des levures et moisissures ⁽¹⁾	5	2	1 000 UFC/g ou mL

(1) Sauf si le biostimulant microbien des végétaux est une bactérie aérobie

Avec : n = nombre d'échantillons à tester;

c = le nombre d'unités de l'échantillon présentant des valeurs supérieures à la limite définie.

UFC : Unité formant colonie

Commentaires :

Les teneurs en micro-organismes proposées dans le tableau 1.1 de l'annexe IV du CDC sont identiques à celles proposées pour les biostimulants non microbiens dans le cadre du projet de réglementation dite « socle commun d'innocuité » pour la catégorie A1 et dans le cadre de la réglementation européen (règlement UE 2019/1009) pour les PFC 6.B (Biostimulant non microbien des végétaux)

Les teneurs en micro-organismes proposées dans le tableau 1.2 de l'annexe IV du CDC sont identiques à celles proposées pour les biostimulants microbiens dans le cadre du projet de réglementation dite « socle commun d'innocuité » pour la catégorie A1 et dans le cadre de la réglementation européen (règlement UE 2019/1009) pour les PFC 6.A (Biostimulant microbien des végétaux).

Il conviendrait d'apporter une clarification sur les analyses à réaliser pour vérifier l'innocuité et la conformité des PRODUITS dans le cadre de ce CDC. **Ainsi, considérant la nature microbienne des PRODUITS, seul le tableau 1.2 de l'annexe IV devrait être conservé.** Par ailleurs prenant en compte que les nématodes peuvent être considérés comme des vers parasites dont certaines espèces peuvent causer des dégâts importants aux cultures, et que par ailleurs le CDC ne présente pas d'éléments/données permettant de s'assurer de leur absence dans les PRODUITS, il est proposé d'ajouter une analyse des larves et œufs de nématodes (absence dans 25 grammes).

Dans le cadre de ce CDC, aucune information ne permet de justifier les analyses prévues par le tableau 1.1 du CDC, ni le délai de 21 jours avant la mise en pâture des animaux proposé, issu de la réglementation relative aux sous-produits animaux (article 11 du règlement (CE) n° 1069/2009⁵).

Il est par ailleurs important de noter que certaines limites doivent être prises en compte en ce qui concerne les analyses d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcaceae*. La méthode d'analyse de *E. coli* est validée alors que la méthode actuelle de dénombrement des entérocoques (méthode NPP ISO 7899-1:1998) présente des incertitudes.

En ce qui concerne le paramètre « entérocoques », il est important de prendre en compte que le genre *Enterococcus* regroupe de nombreuses espèces dont certaines sont d'origine intestinale et d'autres d'origine environnementale. Il est difficile de trouver un milieu de culture sélectif adapté à l'analyse de matrices complexes.

Il conviendrait par ailleurs de préciser les normes des méthodes d'analyse à utiliser pour réaliser les analyses. Les méthodes d'analyses nécessaires à la réalisation des contrôles doivent être fiables et reproductibles. Lorsque des procédures normées existent il conviendrait de les appliquer.

Les PRODUITS doivent être conformes à ces critères y compris après la période de stockage envisagée.

⁵ RÈGLEMENT (CE) No 1069/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 21 octobre 2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) n° 1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Anses a été saisie par le ministère chargé de l'agriculture sur un projet de cahier des charges (CDC) relatif à la multiplication de micro-organismes endogènes du sol et leur utilisation en tant que matière fertilisante à effet biostimulant, conformément aux dispositions du point 3 de l'article L. 255-5 du code rural et de la pêche maritime.

Dans ce cadre, il est demandé à l'Agence de donner son avis sur le projet de CDC, afin de s'assurer que les PRODUITS qui lui seront conformes présentent un niveau de sécurité justifiant une autorisation en dispense d'évaluation individuelle préalable. Il est demandé à l'Agence de porter une attention plus particulière aux matières premières utilisables ainsi qu'aux procédés de fabrications, aux autocontrôles et aux restrictions d'usage qui doivent permettre d'assurer l'innocuité des préparations (PRODUITS) produites en conformité à ce projet de CDC.

En se fondant, sur le projet de cahier des charges soumis (CDC) ainsi que sur l'ensemble des éléments réglementaires disponibles, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que :

- Les commentaires et recommandations relatifs au CDC développés dans le présent avis pourraient permettre d'améliorer la lisibilité du CDC.
- Le CDC reste très général et présente globalement très peu de détails concernant la fabrication des PRODUITS visés par le présent CDC, ne permettant pas à l'Agence de porter un avis détaillé et éclairé sur ce CDC.
- Les PRODUITS étant des préparations microbiennes, les seuls critères microbiologiques permettant de vérifier l'innocuité des PRODUITS doivent être uniquement ceux proposés dans le cadre du projet de réglementation dite « socle commun d'innocuité » pour la catégorie A1 pour les biostimulants microbiens ou dans le cadre de la réglementation européen (règlement UE 2019/1009) pour les biostimulants microbiens des végétaux (PFC 6.A). L'ajout d'une analyse des nématodes dans 25 grammes de PRODUIT (œufs et larves) est également recommandé.
- Dans le cadre de ce CDC aucune information ne permet de justifier les analyses prévues par les tableaux 1 et 1.1 du CDC, ni le délai de 21 jours avant la mise en pâture des animaux proposé, issu de la réglementation relative aux sous-produits animaux (article 11 du règlement (CE) n° 1069/2009⁶).
- En l'absence d'informations/données, il est difficile de se prononcer sur une durée maximale de stockage des PRODUITS.
- Compte tenu de la diversité des micro-organismes pouvant être présents dans les PRODUITS finis, en l'absence d'informations précises relatives à l'identification spécifique de chacun des micro-organismes pouvant composer chaque PRODUIT il existe une incertitude concernant l'innocuité des PRODUITS.

⁶ RÈGLEMENT (CE) No 1069/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 21 octobre 2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) n° 1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux

- Les critères d'innocuité fixés par le CDC, notamment pour les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF), pourraient ne pas être suffisants pour garantir la sécurité du consommateur pour l'ensemble des PRODUITS fabriqués selon le CDC. En effet, les PRODUITS sont susceptibles de contenir des micro-organismes pour lesquels, en l'absence de certaines informations relatives à leur innocuité pour l'homme (pathogénicité, antibiogramme, caractère endophyte, production de métabolites secondaires potentiellement toxiques notamment), il est difficile de s'assurer que des risques, notamment pour le consommateur, puissent être totalement exclus.

En ce qui concerne les mesures visant à limiter l'exposition des utilisateurs, il conviendrait de recommander les mesures de gestion suivantes :

- La mise en œuvre de mesures de protections collectives et individuelles (EPI) appropriées ;
- Une absence d'utilisation par les personnes fortement immunodéprimées ou suivant un traitement immunosuppresseur ;
- La mise à disposition de l'information suivante sur le(s) produit(s) : « Contient des micro-organismes. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation ».

Pr Benoit VALLET

MOTS-CLES

Anses - cahier des charges - amplification – micro-organismes – biostimulants - sols.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Avis de l'Anses relatif à un projet de cahier des charges relatif à la multiplication de micro-organismes endogènes du sol et leur utilisation en tant que matière fertilisante à effet biostimulant. Saisine 2024-SA-0145. Maisons-Alfort : Anses, 39 p.

PRESENTATION DES INTERVENANTS

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, intuitu personae, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :
CES Matières Fertilisantes et supports de cultures (MFSC) – (2023 – 2027)

Président

M. Abraham ESCOBAR-GUTIÉRREZ

Vice-président

M. Pascal PANDARD

Membres

Mme Isabelle DEPORTES (Expert rapporteur)

Mme Céline DRUILHE

M. Frédéric FEDER

M. François LAURENT

M. Doan Trung LUU

Mme Isabelle QUILLERE

M. Laurent THURIES

M. Diederik VAN TUINEN (Expert rapporteur)

M. Franck VANDENBULCKE

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

M. DUMENIL Jean-Rémi - Coordinateur scientifique - Pôle Matières Fertilisantes et Supports de Culture - Unité de Coordination des Intrants du Végétal – Anses

M. DUBOISSET Arnaud – Cellule Veille et Développement Scientifique (CVDS) – Anses

ANNEXE 1

Texte de la saisine 2024-SA-0145



Direction générale
de l'alimentation

Service des actions sanitaires
Sous-direction de la santé et de la
protection des végétaux
Bureau des intrants et du biocontrôle
251 rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Monsieur le directeur général
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de
l'alimentation, de l'environnement et du travail

27-31, avenue du Général Leclerc – B.P. 19
94701 MAISONS ALFORT CEDEX

Dossier suivi par : Nicolas Thévenin
nicolas.thevenin@agriculture.gouv.fr

Réf. 2024-124

Paris, le 24 septembre 2024

Objet : Demande d'avis sur un projet de cahier des charges pour la production de préparations microbien-nes issues de la multiplication de micro-organismes endogènes du sol et leur utilisation en tant que matière fertilisante à effet biostimulant.

Monsieur le Directeur général,

Le plan de souveraineté alimentaire pour la filière fruits et légumes annoncé le 1^{er} mars 2023 lors du Salon international de l'agriculture prévoit, au titre des mesures de l'axe A « Protection des cultures », de faciliter le recours à certains biostimulants pour lesquels la procédure d'autorisation de mise sur le marché n'est pas adaptée compte tenu de particularités inhérentes à leur mode de fabrication.

Parmi ces biostimulants, se développent depuis quelques années des produits obtenus par multiplication de micro-organismes issus d'échantillons de sol prélevés sur une parcelle agricole, destinés au réensemencement de cette même parcelle. Les souches endogènes présentent l'avantage d'être mieux adaptées aux contraintes locales (caractéristiques pédoclimatiques, cultures, pH...) que des souches génériques contenues dans un produit commercial à composition figée.

Le projet de cahier des charges faisant l'objet de cette saisine encadre les étapes de fabrication et établit les critères de conformité applicables à la production et à la mise sur le marché de ces préparations, qui peuvent se décliner en 3 catégories :

- Les préparations endomycorhiziennes (PEM) qui sont des préparations microbiennes composées essentiellement de propagules d'espèces de champignons endomycorhiziens ;
- Les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF) qui sont des préparations microbiennes composées uniquement d'espèces bactériennes ;
- Le mélange de ces deux catégories, réalisé à l'issue de la production de chacune d'entre elles.

L'obtention de ces préparations repose sur la sélection et l'amplification de micro-organismes à effet biostimulant tels que décrits au 3^e de l'article L.255-1 du Code rural et de la pêche maritime. Le produit final est destiné à être mis sur le marché et utilisé par des utilisateurs professionnels uniquement. Il est élaboré à partir d'un échantillon de sol provenant d'une parcelle exploitée par l'utilisateur final et doit être appliqué uniquement sur les sols exploités par ce même utilisateur.

Cette saisine a pour objet de solliciter votre avis sur ce projet de cahier des charges, afin de s'assurer que les produits fertilisants qui lui seront conformes présentent un niveau de sécurité justifiant une autorisation en dispense d'évaluation individuelle préalable.

J'appelle plus particulièrement votre attention sur les exigences relatives aux paramètres suivants qui ont été retenus pour assurer l'innocuité des préparations produites à partir de micro-organismes isolés et sélectionnés à partir d'extraits de sols :

- Les matières premières ;
- Les procédés de fabrication ;
- Les autocontrôles ;
- Les restrictions d'usage.

Mes collaborateurs se tiennent à disposition de vos services afin de fournir tout élément complémentaire qui serait nécessaire à la conduite de cette expertise.

Je vous remercie de me faire part de l'avis de l'agence pour le 1^{er} juillet 2025.

Je vous prie de recevoir, Monsieur le Directeur général, mes sincères salutations,

La directrice générale de l'alimentation

MAUD FAIPOUX ID
Signature
numérique de
MAUD FAIPOUX ID
Maud FAIPOUX

ANNEXE 2

**Projet de cahier des charges
soumis à l'Anses**



**Cahier des charges relatif à la multiplication
de micro-organismes endogènes du sol et leur
utilisation en tant que matière fertilisante à
effet biostimulant**

« CDC multiplication microbienne »

Table des matières

1	<u>DEFINITIONS</u>	21
2	<u>CHAMP D'APPLICATION</u>	4
3	<u>FABRICATION DU PRODUIT</u>	23
3.1	<u>INDICATIONS PREALABLES A LA FABRICATION DU PRODUIT</u>	4
3.1.1	<u>Méthode de prélèvement de sol</u>	4
3.1.2	<u>Évaluation de la quantité de produit</u>	4
3.1.3	<u>Matières premières autorisées pour la fabrication</u>	24
3.2	<u>LES ETAPES DU PROCEDE DE MULTIPLICATION MICROBIENNE ET DE FABRICATION DU PRODUIT</u>	5
3.2.1	<u>Etape 1: Extraction et isolement</u>	6
3.2.2	<u>Etape 2 : Multiplication des micro-organismes endogènes à la parcelle</u>	7
3.2.3	<u>Etape 3: finalisation du produit</u>	8
3.2.4	<u>Diversité des espèces microbiennes</u>	29
3.2.5	<u>Concentration en micro-organismes</u>	9
3.2.6	<u>Conditionnement des produits</u>	29
3.3	<u>LE STOCKAGE DU PRODUIT ET LES CONDITIONS DE LIVRAISON DU PRODUIT</u>	30
4	<u>AUTOCONTROLE - GESTION DE LA CONFORMITE DU « PRODUIT »</u>	30
4.1	<u>CONTROLE DE LA QUALITE DU « PRODUIT »</u>	9
4.2	<u>GESTION DE LA NON-CONFORMITE</u>	10
4.3	<u>TRAÇABILITE DU PRODUIT</u>	10
5	<u>PRECONISATIONS D'USAGE</u>	10
6	<u>ANNEXES</u>	34
6.1	<u>ANNEXE I: MODELE DE DECLARATION D'USAGE (DEMARCHE SIMPLIFIEE)</u>	34
6.2	<u>ANNEXE II : FICHE PROCEDE ET POINTS DE CONTROLE</u>	36
6.3	<u>ANNEXE III: FICHE PRODUIT</u>	12
6.4	<u>ANNEXE IV: TENEURS MAXIMALES EN MICRO-ORGANISMES PATHOGENES POUR LES PRODUITS EPANDUS SUR PRAIRIES PERMANENTES ET NE RESPECTANT PAS LE DELAI DE 21 JOURS AVANT LA MISE EN PATURE DES ANIMAUX)</u>	38

Le présent cahier des charges établit les critères de conformité applicables à la fabrication d'une matière fertilisante élaborée à partir de micro-organismes d'intérêt agronomique isolés du sol d'une parcelle clairement identifiée et multipliés en conditions contrôlées. Il définit également les étapes de fabrication, les caractéristiques, les règles d'étiquetage et le système de gestion de la qualité et de traçabilité de cette matière fertilisante.

Ce cahier des charges est pris en application du 3° de l'article L. 255-5 du code rural et de la pêche maritime (CRPM) qui dispense les matières fertilisantes et supports de cultures visés à l'article L. 255-1 des obligations prévues aux articles L. 255-2 à L. 255-4 du CRPM pour leur mise sur le marché et leur utilisation, dès lors que ces produits sont conformes à un cahier des charges approuvé par le ministre chargé de l'agriculture, après avis de l'Anses, conformément à l'article R. 255-29 du CRPM.

Une déclaration d'utilisation du présent cahier des charges auprès du Service Régional de l'Alimentation (SRAL) au sein de la direction régionale de l'alimentation de l'agriculture et de la forêt (DRAAF) est obligatoire à chaque utilisation. Elle indique la dénomination du produit utilisé, les doses appliquées, l'identification des parcelles recevant le produit ainsi que les résultats des analyses des critères d'innocuité et les fonctions agronomiques ciblées. Ces informations sont conservées au moins 5 ans après la dernière application. Le modèle de déclaration figure en annexe I. Il doit être complété en ligne à l'aide du service de démarches simplifiées accessible au lien suivant : [renvoi vers le document en ligne](#).

Définitions

Parcelle

Il s'agit d'une parcelle de sol pour laquelle le plan local d'urbanisme, défini par les articles L.123-1 et suivants du code de l'urbanisme, autorise l'usage de fertilisants ; ou une parcelle dépendante d'activités réputées agricoles au sens de l'article L. 311-1 du code rural et de la pêche maritime. La parcelle utilisée pour l'isolement des micro-organismes doit être clairement identifiée (nom, coordonnées, indications GPS, ...).

La parcelle peut comprendre la totalité ou une partie des terrains exploités par l'utilisateur du produit.

Préparation microbienne

Au sens de ce cahier des charges, une préparation microbienne est constituée essentiellement d'espèces de champignons endomycorhiziens ou de bactéries multipliés par une mise en culture sur milieu spécifique permettant la sélection des micro-organismes recherchés.

Les micro-organismes qui composent la préparation microbienne respectent les critères suivants :

- ils sont naturellement présents dans le sol de la parcelle à partir de laquelle ils ont été prélevés ;
- ils ont un intérêt agronomique ;
- ils ne sont pas susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme et par conséquent classés dans le groupe 1 conformément aux dispositions de l'article R. 4421-3 du Code du travail.

Dans ce cahier des charges, la préparation microbienne qui respecte les critères d'innocuité pour la santé et l'environnement définis au paragraphe 4 de ce cahier des charges est dénommée « produit ».

Les préparations microbiennes peuvent être de 3 catégories :

- **Les préparations endomycorhiziennes (PEM)** qui sont des préparations microbiennes composées essentiellement de propagules d'espèces de champignons endomycorhiziens. Le produit ainsi fabriqué est dénommé « PEM – (suivi de l'indication des fonctions agronomiques telles que listées au 3.2.1 du présent cahier des charges et la liste des espèces de champignons endomycorhizes endogènes) ; fabriquée à partir d'extraits de sol de la parcelle X (indiquer nom, coordonnées, indications GPS) »
- **Les préparations bactériennes fonctionnelles (PBF)** qui sont des préparations microbiennes composées essentiellement d'espèces bactériennes. Le produit ainsi fabriqué est dénommé « PBF – (suivi de l'indication des fonctions agronomiques telles que listées au 3.2.1 du présent cahier des charges et la liste des espèces bactériennes) ; fabriquée à partir d'extraits de sol de la parcelle X (nom, coordonnées, indications GPS) ».
- **Le mélange des deux catégories précédentes est autorisé après leur production décrite au paragraphe 3.**

Procédés biologiques

Il s'agit des procédés biologiques permettant la multiplication des micro-organismes composant une préparation microbienne et qui respectent les paramètres décrits au 0 du présent cahier des charges.

Champ d'application

Le présent cahier des charges s'applique à un produit constitué de micro-organismes ayant un intérêt agronomique permettant l'amélioration de la qualité des végétaux et leur renforcement, ou l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques du sol.

Le produit est destiné à être mis sur le marché par le fabricant en tant que matière fertilisante à destination d'un utilisateur professionnel. Ce produit est fabriqué à partir d'un sol de parcelle exploitée par l'utilisateur final et doit être appliqué sur la parcelle telle que définie au chapitre 1 de ce cahier des charges.

Le fabricant doit définir en accord avec l'utilisateur final, les fonctions agronomiques recherchées en vue de l'élaboration du produit ainsi que les quantités et les concentrations à atteindre.

Il est de la responsabilité du fabricant de mettre en place un système de suivi de la qualité et de traçabilité du produit et de s'assurer de sa conformité au cahier des charges. Pour cela, il se réfère au chapitre 4 de ce cahier des charges.

Dans ce cahier des charges il est interdit d'ajouter, lors de la fabrication du produit, des matières fertilisantes déjà mises sur le marché en tant que biostimulant au titre du règlement (UE) n°2019/1009 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE⁷, ou des biostimulants entrant dans la composition des fertilisants organiques selon des normes rendues d'application obligatoire en France ou du règlement européen (UE) n°2018/848 relatif à la production

⁷ Règlement (UE) n°2019/1009 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE, modifiant les règlements (CE) n°1069/2009 et (CE) n°1107/2009 et abrogeant le règlement (CE) n° 2003/2003

biologique⁸ ou disposant d'une autorisation de mise sur le marché délivrée en application de l'article L. 255-2 du code rural et de la pêche maritime ou d'un permis d'introduction délivré en application de l'article L. 255-3 du même code.

Les prescriptions présentées dans ce cahier des charges s'appliquent sans préjudice des autres mesures administratives et réglementaires applicables et notamment :

- Directive (UE) n°2020/2184 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2020 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (refonte) ;
- Directive 2008/98/CE modifiée du Parlement européen et du Conseil du 19 novembre 2008 relative aux déchets et abrogeant certaines directives ;
- Règlement (UE) n°2019/1009 du Parlement européen et du Conseil du 5 juin 2019 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE, modifiant les règlements (CE) n°1069/2009 et (CE) n°1107/2009 et abrogeant le règlement (CE) n°2003/2003 ;
- Règlement (UE) n°528/2012 du parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides ;
- Règlement (CE) n°852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires ;
- Règlement (CE) n°178/2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires ;
- Code de la consommation et en particulier ses articles L. 121-2 à L.121-5, L. 412-1 et L. 441-1 relatifs à la loyauté des transactions et la conformité des marchandises ;
- Décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles ;
- Décret n°80-478 du 16 juin 1980 portant application de l'article L. 412-1 du code de la consommation en ce qui concerne les matières fertilisantes et les supports de culture ;
- Arrêté du 30 décembre 2022 modifiant l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique ;
- Arrêté du 19 juin 2015 modifié relatif au système de gestion de la qualité mentionné à l'article D. 541-12-14 du code de l'environnement.

Fabrication du produit

Indications préalables à la fabrication du produit

Méthode de prélèvement de sol

Le sol nécessaire à la fabrication d'un produit correspond à un échantillon composite constitué du mélange d'au moins 10 prélèvements de 1kg effectués par carottage de l'horizon 0-20 cm. L'échantillon prélevé sur une parcelle cultivée peut intégrer des prélèvements racinaires lorsque la recherche de champignons endomycorhiziens est ciblée sur la culture en place.

Chaque prélèvement de sol peut être effectué sur sol nu ou sol couvert et ceci quel que soit le type de culture mise en place.

⁸ Règlement (UE) 2018/848 relatif à la production biologique et à l'étiquetage des produits biologiques, et abrogeant le règlement (CE) no 834/2007 du Conseil.

Chaque échantillon composite de sol est référencé avec les informations suivantes :

- numéro de parcelle ou d'ilot cultural ;
- dénomination, adresses, si disponible ;
- zone de prélèvement (coordonnées GPS) ;

L'échantillon composite de sol est stocké à l'abri des intempéries dans un lieu dédié et clos de manière à prévenir tout risque de « dégradation » ou de « contamination » susceptible de le rendre impropre à son utilisation. Il peut être stocké au maximum 7 jours à température n'excédant pas une moyenne de 20°C +/- 5°C avant le début de la phase d'extraction des micro-organismes. La fraction de sol non utilisée doit être retournée à la parcelle dont elle est issue ou éliminée selon la réglementation en vigueur.

Évaluation de la quantité de produit

Avant la fabrication, il importe de définir le volume total de préparation à produire en se basant sur la surface totale à traiter (en m² ou hectare) et la dose d'application (quantité de produit par ha) définie. Pour cela, les surfaces réceptrices sont communiquées au fabricant par le commanditaire.

Matières premières autorisées pour la fabrication

La liste des matières premières utilisées pour la fabrication d'un produit est inscrite dans un registre tel que précisé au paragraphe 4.3 de ce cahier des charges.

Plantes hôtes pour la mise en culture

Dans le cadre de la production de PEM, la phase de multiplication en fermenteur peut être précédée d'une phase de développement en présence de plantes hôtes. Dans ce cahier des charges, seuls sont autorisés les graines ou plants d'origine géographique connue et exempts de restrictions sanitaires ou phytosanitaires et non génétiquement modifiées (OGM).

Matériaux inertes

La mise en culture de ces plantes hôtes pour une préparation endomycorhizienne (PEM) doit être réalisée uniquement sur des matériaux inertes de type sable ou perlite.

Solutions nutritives pour la multiplication microbienne

Le procédé de multiplication microbienne peut nécessiter l'apport d'éléments nutritifs ou d'oligoéléments lors de sa mise en œuvre. Seuls les intrants suivants sont autorisés lors de la phase d'extraction des micro-organismes du sol ou la phase de multiplication:

- ❖ Pour la production de PEM :
 - Solutions d'engrais minéraux et oligoéléments conformes à une AMM ou à une dispense valide relevant d'une catégorie définie au 1^o ; 2^o ou au 3^o de l'article L. 255-5 du CRPM ;
 - Solutions nutritives stérilisées et composées de sources de nutriments avec des numéros CAS identifiés pour chaque matière première composant la solution nutritive.
- ❖ Pour la production de PBF :
 - Solutions nutritives stérilisées et composées de sources de nutriments avec des numéros CAS identifiés pour chaque matière première composant la solution nutritive.

L'eau utilisée lors de la fabrication du produit doit être au minimum classée comme « Eau Destinée à la Consommation Humaine » conformément à :

- La Directive 98/83/CE sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, transposée en droit français par le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 et modifiée par la directive 2015/1787 du 6 octobre 2015 ;
- L'arrêté du 30 décembre 2022 modifiant l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Matériel pour la fabrication des préparations microbiennes

Le matériel utilisé pour la fabrication des préparations microbiennes doit être destiné à ce seul usage, entretenu et entreposé de façon adéquate. Le fabricant doit maîtriser les bonnes conditions de stérilité du matériel et des milieux de culture. En particulier, le fabricant devra:

- Utiliser du matériel propre au contact des matières premières et du produit en cours de fabrication;
- S'assurer que les conditions de stockage du matériel permettent d'éviter tout risque de contamination ;
- se munir d'un poste de sécurité microbiologique conforme à la norme EN 12469⁹ pour la fabrication du produit PBF ou PEM aux étapes d'extraction et d'isolement (Cf. 0 et 0).

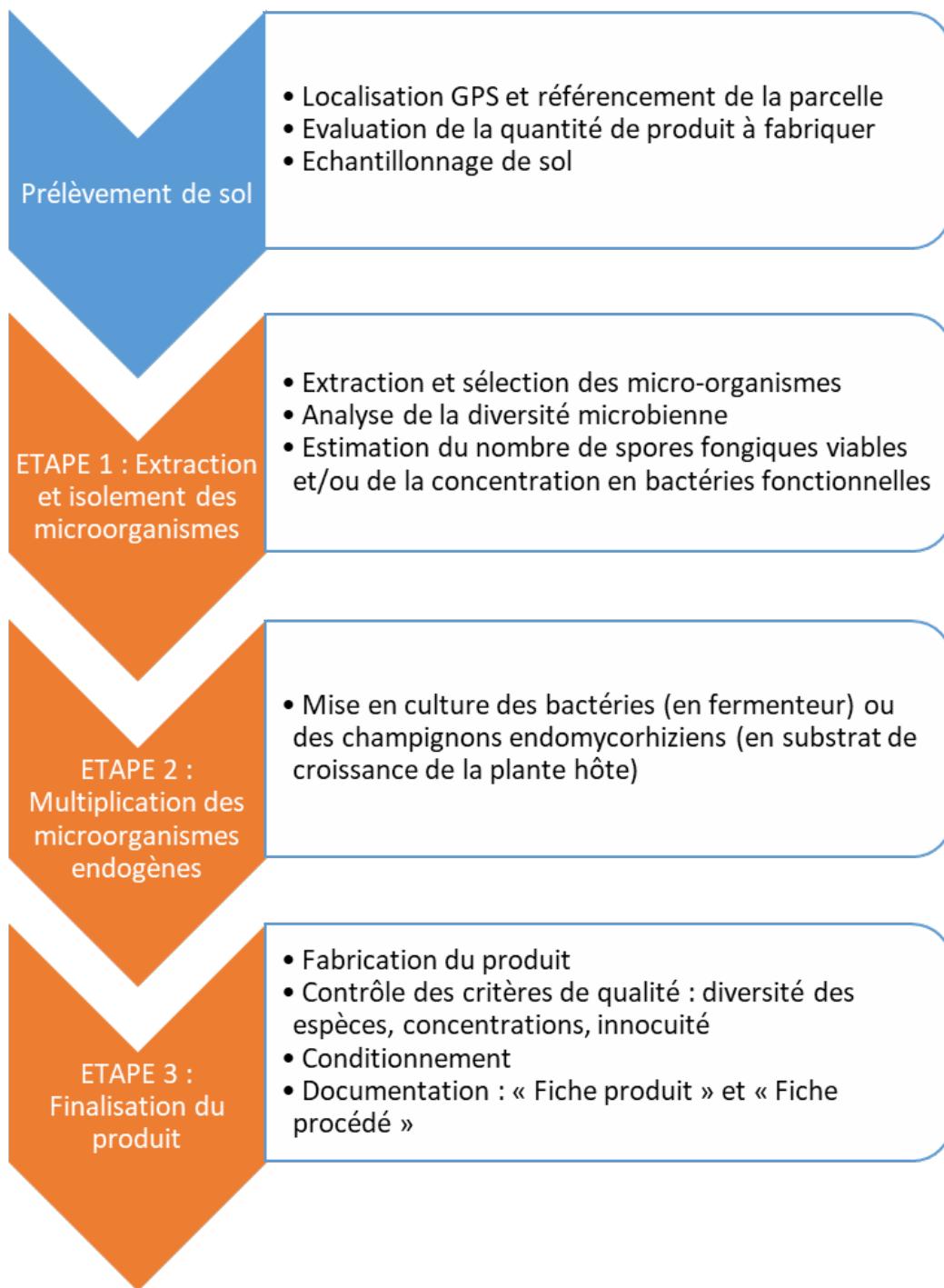
Le matériel doit être stérilisé (Ex : traitement par autoclavage à 120°C pendant 20 min) puis nettoyé à chaque fin de production et stérilisé à 120°C pendant 20 min avant chaque mise en culture. Les produits pour le nettoyage et la désinfection sont autorisés au titre du règlement (UE) n°528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides. Les produits de nettoyage et de désinfection sont manipulés et utilisés conformément à leur réglementation spécifique et aux instructions du fabricant (dosage, température, rinçage intermédiaire...) et de manière à limiter le risque de contamination des produits et de l'environnement.

Les étapes du procédé de multiplication microbienne et de fabrication du produit

Le fabricant élabore la « Fiche procédé » (Cf. annexe I) en veillant à décrire les différentes étapes résumées dans la Figure 1. Cette « Fiche procédé » est conservée par le fabricant au moins 5 années après la dernière fabrication conforme à cette fiche.

Sur la base de cette fiche le fabricant rédige une « Fiche produit », unique à chaque produit. Cette fiche est transmise au commanditaire. Elle contient les informations nécessaires à l'identification et à l'usage du produit tel que décrit au 5 (Cf. annexe II). Cette fiche est conservée pour une durée au moins égale à 5 ans après la date de livraison du produit à l'utilisateur.

⁹ NF EN 12469 (juillet 2000) Biotechnologie - Critères de performance pour les postes de sécurité microbiologique



1. *Figure 1 : Les étapes clés de la fabrication du « produit » de multiplication microbienne*

Etape 1: Extraction et isolement

PBF : Préparation de l'inoculum composé d'espèces bactériennes fonctionnelles

Pour les PBF, l'extraction de l'inoculum bactérien est réalisée à partir du mélange d'un échantillon composite de sol et de matières premières autorisées pour la fabrication telles que précisées au 3.1.4.

L'extrait obtenu est mis en culture sur milieu d'isolement spécifique ciblant des fonctions bactériennes d'intérêts agronomiques telles que :

- La fixation d'azote,
- La solubilisation du phosphore,
- La solubilisation du Fer,
- Toute propriété permettant d'améliorer la croissance et la nutrition des plantes à travers des fonctions microbiennes du sol.

Les espèces bactériennes isolées sur chaque milieu de culture sont sélectionnées pour leurs fonctions cibles.

Les informations nécessaires à la mise en culture des bactéries, les méthodes et la composition du milieu de culture et d'isolement des espèces bactériennes doivent être renseignées dans la « Fiche procédé ».

PEM : Préparation de l'inoculum composé d'espèces d'endomycorhizes viables

Pour les PEM, la préparation débute par une étape de tamisage à l'eau des fractions de sol avec racines afin de récupérer les spores de champignons endomycorhiziens. Les spores récupérées sont mélangées aux racines préalablement lavées et broyées entre 1-2mm. Cette préparation constitue l'inoculum de propagules de champignons endomycorhiziens à amplifier.

Les informations nécessaires à l'isolement des spores d'endomycorhizes, les méthodes utilisées doivent être renseignées par le fabricant dans la « Fiche procédé ».

Analyses à réaliser sur l'inoculum de PEM et PBF au niveau de l'étape 1

Les inocula de PEM et PBF ainsi préparés doivent être **caractérisés par une analyse microbienne** afin de déterminer :

- **Pour les PEM** : le nombre de spores viables et la diversité des espèces de champignons endomycorhiziens (méthode metabarcoding¹⁰ ou équivalent) avant de passer à l'étape de multiplication. Les méthodes d'analyse de la concentration en spores et d'identification des espèces de champignons d'endomycorhize à amplifier sont précisées en 0 et en 0 respectivement et sont à renseigner par le fabricant dans la « Fiche procédé » et dans celle de chaque produit.
- **Pour les PBF** : la concentration en espèces bactériennes ciblées et la diversité des espèces bactériennes fonctionnelles (méthode metabarcoding ou équivalent). Les méthodes d'analyses de la concentration et d'identification des espèces bactériennes fonctionnelles sont précisées en 0 et en 0 respectivement et sont à renseigner par le fabricant dans la « Fiche procédé ».

Cette caractérisation permet de s'assurer du nombre et de la nature des espèces microbiennes présentes dans l'inoculum et de les relier aux fonctions agronomiques recherchées.

¹⁰ Le métabarcoding est un séquençage à haut débit qui permet, grâce à des marqueurs standards ou spécifiques ciblant des genres ou espèces, d'identifier les micro-organismes dans un échantillon

Etape 2 : Multiplication des micro-organismes endogènes à la parcelle

Etape 2 - PBF : Procédé de multiplication bactérienne

Le procédé consiste à multiplier en conditions contrôlées les micro-organismes présents dans l'inoculum. Le milieu de culture peut être complémenté des matières premières autorisées (Cf. § 3.1.4).

Les conditions de multiplication (température, durée de culture, etc.) ainsi que les indicateurs de mesure assurant le bon déroulement du procédé de multiplication tels que le pH, le potentiel Redox etc. doivent être définis par le fabricant et figurer dans chaque « Fiche procédé ».

Etape 2 -PEM : Procédé de multiplication des champignons endomycorhiziens

La multiplication des champignons endomycorhiziens se déroule par la mise en culture, en enceinte climatique ou en serre, des inocula de PEM avec des graines ou des plants hôtes, dans des pots ou autres contenants, complémentés avec les matières premières autorisées (Cf. § 3.1.4). La durée de la culture nécessaire à l'installation de la mycorhization doit être supérieure à 2 mois.

Les conditions de multiplication (température, intensité lumineuse, humidité, temps de culture, ...) ainsi que les indicateurs assurant le bon déroulement du procédé de multiplication en lien avec le substrat de culture, le développement et la santé de la plante hôte ainsi que sa mycorhization sont inscrits dans la « Fiche procédé ».

Contrôle des préparations microbiennes

A l'issue du processus de multiplication des **PBF** la concentration bactérienne doit être augmentée au minimum d'un facteur multiplicatif de 8 Log₁₀. Le fabricant s'assure du développement des micro-organismes présentant les fonctions cibles recherchées et définies avec l'utilisateur final (Cf. § 3.2.1.1 et 3.2.1.3). Il mesure la concentration, le nombre d'espèces multipliées et la concentration finale des espèces bactériennes fonctionnelles dans la préparation en sortie de fermenteur.

A l'issue du processus de multiplication des **PEM et des PBF**, le fabricant s'assure que le produit répond aux objectifs définis avec l'utilisateur final (Cf. § 3.2.1.3) en termes de concentration et diversité de spores viables.

Etape 3: finalisation du produit

Fabrication des PEM

La fabrication des PEM issues du procédé de multiplication est réalisée selon trois phases :

- Broyage des racines préalablement séparées du substrat de culture et tamisage du substrat de culture à 2mm ;
- Mélange du substrat < 2 mm avec les racines broyées ;
- Apport d'un matériau inerte (sable par exemple) au mélange préparé (broyat racinaire et substrat tamisé) pour atteindre la concentration finale, selon les critères définis au paragraphe 0 du CDC, en nombre de spores viables des espèces de champignons endomycorhiziens amplifiées.

La fabrication des PEM est finalisée par le conditionnement de la préparation stabilisée dans des contenants adaptés et fermés hermétiquement (Cf. § 3.2.7).

Fabrication des PBF

La fabrication des PBF issues du procédé de multiplication, décrit en Etape 2 du procédé PBF, est finalisée par le conditionnement de la préparation stabilisée dans des contenants stérilisés et n'induisant pas un processus de fermentation de la préparation (Cf. § 3.2.7).

Diversité des espèces microbiennes

PEM : Le nombre, le genre et l'espèce (si disponible pour cette dernière) de chaque champignon endomycorhizien isolé et multiplié pour la fabrication du produit doivent être fournis par le fabricant et indiqués dans la « Fiche produit » lors de sa livraison.

PBF : Le nombre, le genre et l'espèce (si disponible pour cette dernière) de chaque souche bactérienne isolée et multipliée pour la fabrication du produit doivent être fournis par le fabricant et indiqués dans la « Fiche produit » lors de la livraison.

Les analyses du nombre d'espèces composant les PBF ou les PEM peuvent être réalisées sur un seul échantillon représentatif du produit.

Concentration en micro-organismes

PEM : La concentration en spores viables des champignons endomycorhiziens dans le produit doit être au minimum de 500 spores/g de produit brut. La concentration finale de chacune des espèces de champignons endomycorhiziens composant le produit doit être fournie dans la « Fiche produit » (Cf. annexe III) avec un écart admissible inférieur ou égal à 15%.

PBF : La concentration en bactéries fonctionnelles dans le produit doit être supérieure à 10^9 UFC/mL ou par g (Unités formant colonies par mL ou par g). Un écart admissible inférieur de 1 Log₁₀ maximum est accepté au niveau de la valeur garantie en concentration bactérienne des espèces cibles amplifiées, à condition que le seuil minimal de 10^9 UFC/mL ou par g soit dépassé. La concentration finale des espèces bactériennes composant le produit doit être fournie dans la « Fiche produit » (Cf. annexe au 0) avec un écart admissible de 1 Log₁₀

Au minimum trois mesures de la concentration bactérienne pour les PBF ou de spores viables pour les PEM, sont à réaliser sur un échantillon représentatif du produit.

Conditionnement des produits

Les produits peuvent faire l'objet d'une stabilisation afin de préserver leurs propriétés jusqu'à leur utilisation sur la parcelle. Les méthodes de stabilisation peuvent correspondre à la déshydratation, la congélation, la lyophilisation, l'apport de substrat inerte (sable), l'incorporation de sulfites, la mise en place d'atmosphère modifiée ou tout autre traitement équivalent. L'incorporation de matériau stabilisant ne peut excéder 5% m/m ou v/v du produit brut.

La fabrication des PBF issues du procédé de multiplication est finalisée par le conditionnement de la préparation microbienne amplifiée et stabilisée dans des contenants adaptés de sorte que la reprise de croissance ou les réactions de fermentation soient limitées. Pour prévenir tout risque de contamination, le produit est stocké dans des contenants étanches et fermés hermétiquement permettant de l'isoler de son environnement jusqu'à sa mise sur le marché.

Ces informations sont inscrites sur la « Fiche produit » et la « Fiche procédé ». Le produit conditionné doit atteindre la concentration finale en nombre d'espèces bactériennes fonctionnelles telle que définie au paragraphe 0 du cahier des charges, jusqu'à son utilisation par l'utilisateur final. Si besoin une date limite d'utilisation est établie.

Le stockage du produit et les conditions de livraison du produit

Le stockage du produit est réalisé dans des lieux dédiés à cet usage et le principe de « marche en avant » est respecté afin d'exclure la rencontre des matières entrantes et des produits en fabrication jusqu'à leur mise sur le marché et ainsi prévenir tout risque de contamination croisée.

Le stockage d'un produit avant son application est possible et peut s'avérer nécessaire selon le délai prévisible entre la date du prélèvement de sol nécessaire pour fabriquer le produit et celle de l'application à la parcelle. **La durée de stockage est de 6 mois maximum** à compter de la date de fin de fabrication du produit, sauf si une date limite d'utilisation plus courte a été établie. Cette durée maximale de stockage est validée par une vérification de la conformité du produit en fin de stockage en termes d'innocuité et de qualité selon les critères définis en autocontrôle (chapitre 5) du présent cahier des charges.

Autocontrôle - Gestion de la conformité du « produit »

Le fabricant d'un produit doit disposer :

- d'un système de gestion de la qualité garantissant la conformité de chaque produit à ce cahier des charges (Cf. § 4.1),
- d'un système d'enregistrement et de suivi des matières premières et du produit,
- d'une procédure de déclassement des produits non conformes (élimination par traitement thermique, chimique ou autre...) (Cf. § 4.2).

Le fabricant doit être en mesure de fournir l'ensemble des éléments justificatifs nécessaires en cas de contrôle des services compétents de l'administration.

Contrôle de la qualité du « produit »

Le fabriquant respecte les critères d'innocuité des MFSC définis par voie règlementaire aux articles D. 255-1-1 et D. 255-1-2 du CRPM, que ce soit par la réalisation des analyses de contaminants requises par lesdits articles ou par la démonstration que le plan d'assurance qualité mis en place et le procédé de fabrication utilisé permettent de respecter ces critères. Le fabriquant tient à disposition des autorités compétentes les preuves de l'innocuité du produit.

Le fabricant s'assure que la concentration ou la dose de chacune des espèces microbiennes (PBF et PEM) contenues dans le produit fini ne soit pas susceptible d'engendrer un risque pour l'homme (consommateur) suite à son utilisation selon les modalités d'application préconisées. Lorsqu'elles sont disponibles, les concentrations ou doses de référence réglementaires ou communément admises pourront être utilisées pour conduire cette évaluation des risques pour les consommateurs.

Le produit doit satisfaire aux critères suivants :

- Respect des écarts autorisés pour les concentrations indiquées au § 0
- Respect des valeurs seuils en pathogènes indiquées au 1.

2. *Tableau 3 : Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes dans le produit*

	Taille de la prise d'échantillon représentatif du produit	n	m	M	c
Échantillons représentatifs du produit					
<i>Escherichia coli ou Enteroccaceae</i>	1 g de matière brute (MB)	5	1 000	5 000	1
<i>Salmonella</i> spp.	25 g MB	5	0	0	0

Avec :

n = nombre d'échantillons à tester;

m = valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m;

M = valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant dès lors que le nombre de bactéries dans au moins un échantillon est supérieur ou égal à M;

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M, l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m.

Il est de la responsabilité du fabricant de s'assurer de l'innocuité du produit mis en marché jusqu'à la date d'utilisation recommandée (incluant un stockage éventuel).

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de respecter les conditions de stockage et d'usage du produit afin de garantir l'innocuité des denrées qu'il met sur le marché, conformément à l'article 1 du règlement (CE) n°852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.

Gestion de la non-conformité

Le fabricant dispose de processus de gestion des produits non conformes. Les processus sont adaptés à la non-conformité constatée selon qu'elle concerne la qualité et/ou l'innocuité du produit.

La destruction des produits non conformes doit être gérée par le fabricant selon le processus de gestion de non-conformité du produit et conformément à la réglementation en vigueur sur l'élimination des déchets (Articles L541-1 et suivants du code de l'environnement). Pour établir ce processus (Ex : destruction par autoclavage 120°C/20 min, etc.), le fabricant peut s'appuyer sur les moyens efficaces pour la gestion et l'élimination des déchets d'activité de soins à risques infectieux (DASRI) tels que définis à l'article R1335-1 du code de la santé publique et le guide des bonnes pratiques pour la gestion des DASRI publié par le ministère de la Santé.

Ce processus est consigné dans la « Fiche procédé ».

La gestion détaillée des non-conformités et la destination effective du produit non-conforme doit être consignée par écrit dans un registre des non-conformités conservé par le fabricant pendant une durée minimale de 5 ans.

Traçabilité du produit

Le fabricant met en place un système de gestion de la qualité reposant sur l'identification des dangers et la maîtrise de points critiques. Il s'assure de la conformité des matières premières et veille au respect des conditions décrites au paragraphe 5. Il dispose des informations nécessaires pour s'assurer de cette conformité.

Il est recommandé que les informations sur les matières premières, le procédé d'amplification microbienne, en plus des quantités et volumes du produit, soient clairement identifiées dans les fiches.

Le fabricant tient à la disposition de l'autorité compétente les éléments ci-dessous :

Registre des matières premières : enregistrement de chaque matière première entrante, en spécifiant la date de réception et la quantité réceptionnée et la date d'élimination des déchets et des matières résiduelles.

Registre de produit : Identification du produit (numéro avec référence à sa « Fiche procédé » (§ 0) et les analyses effectuées sur le produit (section 0 du CDC) validant sa conformité au CDC).

- Les informations suivantes sont enregistrées :
 - o Le destinataire du produit (nom, coordonnées),
 - o La localisation de la parcelle d'usage du produit,
 - o La quantité ou volume de produit fabriqué,
 - o La « Fiche procédé »
 - o La « Fiche Produit »
 - o L'identification du produit sur la facture du destinataire.

Préconisations d'usage

Les préconisations d'usages sont fournies à l'utilisateur avec la « Fiche produit ».

Seuls les usages mentionnés au *Tableau 2* peuvent être préconisés.

3. *Tableau 4 : Les usages autorisés en fonction des types de cultures.*

Types de culture	Apport au sol	Dates d'apport
Grandes cultures	Autorisé	Avant semis et/ou au moment du semis
Arboriculture / viticulture	Autorisé	Sous le rang et/ou Inter-rang
Cultures maraîchères	Autorisé	Avant semis et/ou au moment du semis

Culture intermédiaire non fourragère	Autorisé	Avant semis et/ou au moment du semis
Prairies et cultures fourragères	Autorisé	Avant semis et/ou au moment du semis Sur prairie permanente (1)

(1) A condition de respecter un délai de 21 jours avant la mise en pâture des animaux ou si les critères d'innocuité respectent les teneurs maximales indiquées dans les tableaux 1.1 et 1.2 de l'annexe IV

Le fabricant préconise l'ensemble des mesures de gestion et d'application nécessaires pour garantir la sécurité des personnes et de l'environnement.

ANNEXES

ANNEXE I: Modèle de déclaration d'usage (démarche simplifiée)

IDENTIFICATION DU DEMANDEUR

N° SIRET :

Raison sociale :

Adresse de l'établissement :

Complément d'adresse :

Code postal : Commune :

Pays :

PREPARATION MICROBIENNE

Préparation de champignon endomycorhiziens (PEM)

Fonction agronomique :

Liste des champignons amplifiés

Préparation de bactéries fonctionnelles (PBF)

Fonction agronomique :

Liste des bactéries amplifiées

Mélange de PEM et de PBF

Fonction agronomique :

Liste des microorganismes amplifiés

USAGES

Grandes cultures

Arboriculture / viticulture

Cultures maraîchères

Culture intermédiaire non fourragère

Prairies et cultures fourragères

Autres

DOCUMENTS A TRANSMETTRE

Une copie de la fiche produit
Une copie des résultats d'analyses des critères d'innocuité
La liste des parcelles réceptrices du produit et les cultures mises en place

Nom du signataire de la déclaration :

Prénom :

Fonction :

Fait le / /

Signature :

RESERVE A L'ADMINISTRATION
À L'USAGE DU MINISTÈRE CHARGE DE L'AGRICULTURE – NE RIEN INSCRIRE DANS CETTE SECTION

N° DOSSIER : _____

|__|__|/|__|__|/|__|__|__|

DATE

DE

RÉCEPTION

:

ANNEXE II : Fiche procédé et points de contrôle

Le fabricant doit fournir une « Fiche procédé » pour chaque procédé de fabrication en décrivant en détail les étapes de fabrication décrites au paragraphe 3.2, ainsi que les points de contrôle de la qualité de production.

Ces points de contrôle sont placés aux étapes 1 et 2 du procédé et doivent au minimum être mis en œuvre :

- i) Sur les matières premières pour vérifier l'absence de contamination microbienne de ces matières premières utilisables pour la mise en culture de l'échantillon de sol à amplifier en référence à l'Etape 1 du procédé. Plus précisément, le fabricant doit vérifier que les matières premières sont exemptes :
 - De signes de maladies sur les échantillons de racines prélevées à la parcelle pour l'extraction des spores de champignons endomycorhiziens,
 - De micro-organismes pour les milieux de culture utilisables lors de la multiplication des espèces bactériennes.
- ii) Lors de l'étape de multiplication des PEM en référence à l'étape 2 du procédé pour vérifier l'absence de contamination. Pour cela les contrôles doivent inclure
 - Une observation microscopique ou visuelle de signes de maladie sur les racines des plantes après culture dans le substrat (pot de culture) et avant extraction des spores d'endomycorhizes,
 - Une observation visuelle de la formation de filaments ou de pelotes de champignon dans le matériel de multiplication (fermenteur) et/ou une analyse sur milieu de culture pour champignon.
- iii) Sur le produit fini.

La liste des matières premières, les méthodes d'extraction, les milieux de culture pour l'isolement et l'amplification et les méthodes d'analyses doivent être décrites dans la « Fiche procédé ».

ANNEXE III : Fiche produit

Sans préjudice des dispositions du code de la consommation, du décret n° 80-478 portant application de l'article L. 412-1 du code de la consommation en ce qui concerne les matières fertilisantes et support de culture, le fabricant du produit a la responsabilité d'informer l'utilisateur du produit sur les éléments cités ci-dessous. Pour cela, le fabriquant élabore une fiche d'enregistrement pour chaque produit.

Cette fiche doit être fournie à l'utilisateur au moment de la livraison du produit et elle est conservée pour une durée de 5 ans. Cette fiche doit indiquer les informations suivantes :

1. La référence au cahier des charges ;
2. La dénomination du produit au regard du présent cahier des charges ;
 - **Produit de PEM – fonction (indiquer la ou les fonction(s) agronomique(s))**
 - **Produit de PBF – fonction (indiquer la ou les fonction(s) agronomique(s))**
 - **Produit de PBF et de PEM - fonction (indiquer la ou les fonction(s) agronomique(s))**
3. Le nombre, le nom et la concentration de chaque espèce bactérienne ou fongique présente dans le produit. La concentration est exprimée en spores viables par g ou mL pour les champignons et en UFC/g ou par mL pour les bactéries ;
4. Le pourcentage de matière sèche exprimé en pourcentage de la masse de produit brut ;
5. La valeur pH ;
6. Les coordonnées du site de production ;
7. L'identification du lot de produit en référence à la parcelle de prélèvement de sol ;
8. Les coordonnées (GPS, dénomination, adresse, ...) de la parcelle de prélèvement ;
9. La durée et les conditions de stockage avant l'application ;
10. Les conditions de préparation du produit : Le(s) volume(s) de dilution en litres, le substrat de dilution (qualité de l'eau par exemple) ;
11. Le mode d'apport (goutte à goutte, au sol, ...) et les conditions agro-climatiques (température, humidité, vent ...) pour une efficacité optimale ;
12. La dose d'apport incluant le volume de dilution avant emploi, la fréquence d'apport et la dose d'emploi maximale recommandée ;
13. Les préconisations d'usage sur les sols récepteurs et les cultures associées ainsi que la compatibilité ou non avec des produits phytosanitaires et des matières fertilisantes ;
14. Les restrictions d'emploi ;
15. L'indication de la nature des risques particuliers pour l'homme, les animaux ou l'environnement ;
16. Les précautions à prendre pour la protection de l'homme, des animaux ou de l'environnement. Les mentions de précaution en lien avec la présence des micro-organismes dans le produit doivent préciser :
 - Produit contenant des micro-organismes. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation ;
 - Le produit ne doit pas être utilisé par des personnes immunodéprimées sous traitement immunosupresseur.
17. Des instructions pour l'élimination en toute sécurité du produit et de son emballage ;

ANNEXE IV : Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes pour les produits épandus sur prairies permanentes et ne respectant pas le délai de 21 jours avant la mise en pâture des animaux)

Tableau 1.1 : Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes dans le produit

	Taille de la prise d'échantillon représentatif du produit	n	m	M	c
Échantillons représentatifs du produit					
<i>Escherichia coli</i> ou <i>Enteroccaceae</i>	1 g de matière brute (MB)	5	1 000	5 000	1
<i>Salmonella</i> spp.	25 g MB	5	0	0	0

Avec :

n = nombre d'échantillons à tester;

m = valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m;

M = valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant dès lors que le nombre de bactéries dans au moins un échantillon est supérieur ou égal à M;

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M, l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m.

Tableau 1.2 Teneurs maximales en micro-organismes pathogènes

	Plan d'échantillonnage		Limite sur la matière brute
	n	c	
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Escherichia coli</i>	5	0	Absence dans 1 g ou 1 mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Vibrio</i> spp.	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Shigella</i> spp.	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	Absence dans 25 g ou 25 mL
<i>Enteroccaceae</i>	5	2	10 UFC/g

Dénombrement sur plaque des germes anaérobies ⁽¹⁾	5	2	10^5 UFC/g ou mL
Dénombrement des levures et moisissures ⁽¹⁾	5	2	1 000 UFC/g ou mL

(1) Sauf si le biostimulant microbien des végétaux est une bactérie aérobie

Avec : n = nombre d'échantillons à tester;

c = le nombre d'unités de l'échantillon présentant des valeurs supérieures à la limite définie.

UFC : Unité formant colonie