

Maisons-Alfort, le 24 janvier 2022

Conclusions de l'évaluation*

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché de la société TOOPI ORGANICS pour le produit BACTIPI

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

Les « conclusions de l'évaluation » portent sur l'évaluation des effets que l'utilisation des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture peuvent présenter pour la santé humaine, la santé animale et pour l'environnement ainsi que sur l'évaluation de leur efficacité au regard des effets revendiqués dans les conditions d'emploi prescrites.

Le présent document ne constitue pas une décision.

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Anses a accusé réception d'une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) de la société TOOPI ORGANICS pour le produit BACTIPI.

BACTIPI est une solution concentrée de *Lactobacillus paracasei* souche CNCM I-5643 dans leur milieu de culture (urine humaine), proposé pour une utilisation en application au sol.

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit BACTIPI concernent l'amélioration du rendement, l'amélioration de la croissance aérienne, l'amélioration de la croissance et du développement racinaire, l'amélioration de la nutrition des plantes en favorisant l'assimilation des éléments nutritifs, la résistance au stress abiotique (tolérance accrue à la sécheresse) et l'amélioration de l'efficacité des engrais.

Les caractéristiques garanties et les usages revendiqués par le demandeur pour le produit BACTIPI sont présentés en annexe 1.

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

Les données prises en considération sont celles soumises par le demandeur et jugées valides par la DEPR, ainsi que l'ensemble des éléments dont la DEPR a eu connaissance. Les conclusions relatives à la conformité des éléments présentés se réfèrent aux critères définis dans l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

Lorsque des données complémentaires sont identifiées comme nécessaires, celles-ci sont détaillées à la fin des conclusions.

* Ces conclusions d'évaluation annulent et remplacent celles émises le 17 janvier 2022.

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

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

SYNTHESE DE L'EVALUATION

Après évaluation de la demande et avec l'accord du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture", réuni le 6 janvier 2022, la Direction d'évaluation des produits réglementés émet les conclusions suivantes.

CONCLUSIONS RELATIVES A LA CARACTERISATION DU PRODUIT ET A LA QUALITE DE LA PRODUCTION

Caractérisation et procédé de fabrication

Les spécifications du produit BACTIPI, telles que décrites dans le dossier soumis, permettent de le caractériser et sont conformes aux dispositions réglementaires.

La souche CNCM I-5643 de *Lactobacillus paracasei* contenue dans le produit BACTIPI est conservée et enregistrée auprès de la banque de collection de cultures (CNCM) sous le numéro CNCM I-5643. Elle a été isolée d'un sol proche de Langon en France. Il s'agit d'une souche indigène et sauvage, non génétiquement modifiée.

L'identification du micro-organisme contenu dans le produit BACTIPI a été effectuée par une approche polyphasique : coloration de Gram (bacilles gram +), galeries API (caractérisation en fonction des paramètres métaboliques et biochimiques) et spectrométrie de masse (technique MALDI-TOF-MS pour l'obtention d'une signature spectrale en fonction de la composition protéique des parois cellulaire du micro-organisme). Cette approche a permis une identification du genre et de l'espèce bactérienne.

Par ailleurs, le principe d'une méthode moléculaire basée sur le séquençage de l'ARN 16S visant à identifier à la souche *Lactobacillus paracasei* composant BACTIPI a été soumis. Cette caractérisation génétique proposée est basée sur la technique PCR³ utilisant les amorces paracasei16S et paracaseiITS (Berthier et al., 2001⁴), le séquençage (méthode de SANGER) puis l'identification (bio-informatique sur BLAST). Aucun résultat n'a été fourni pour permettre la caractérisation et l'identification de la souche CNCM I-5643.

De plus, d'après la littérature et les connaissances scientifiques, il est peu probable que le séquençage de l'ARN 16S permette la caractérisation de la souche de *Lactobacillus paracasei*, c'est-à-dire être dans la capacité de bien différencier *Lactobacillus paracasei* souche CNCM I-5643 composant BACTIPI des autres souches proches d'un point de vue génomique.

L'ensemble des informations disponibles ne permet donc pas une identification à la souche du micro-organisme composant BACTIPI.

Le procédé de production du produit BACTIPI repose sur une étape d'acidification des urines collectées, suivi d'une filtration puis d'une fermentation de l'urine par *Lactobacillus paracasei* souche CNCM I-5643. L'urine utilisée provient essentiellement (90 %) des loueurs de toilettes sèches mais également d'un groupe de laboratoires d'analyses médicales (10 %), dans ce cas seules les urines non traitées avant analyse sont collectées.

Chaque lot de commercialisation du produit BACTIPI correspond à 5 tonnes. Le produit BACTIPI est conditionné dans des cuves IBC de 1000 L ou des bidons de 10 L en PEHD⁵.

Le système de management de la qualité de la fabrication et de la traçabilité des matières premières et des lots de production est décrit de manière complète et est considéré comme satisfaisant. La gestion des non-conformités est pertinente.

Les attestations croisées de fourniture et d'approvisionnement sont présentées de manière exhaustive pour ce qui concerne les sources des matières premières. Toute autre provenance correspondrait à un changement de composition et nécessiterait une évaluation complémentaire.

Les matières premières, ainsi que le procédé de fabrication, ne présentent pas de danger physico-chimique particulier.

³ Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne

⁴ Berthier et al., 2001. Origin and diversity of mesophilic lactobacilli in Comté cheese, as revealed by PCR with repetitive and species-specific primers. *International Dairy Journal* 11 (2001) 293–305.

⁵ PEHD : Polyéthylène Haute Densité

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

La méthode d'échantillonnage utilisée dans le cadre du dossier technique pour constituer les échantillons soumis à l'analyse est pertinente compte tenu de la matrice considérée et des essais réalisés.

La plupart des analyses présentées ont été effectuées par des laboratoires sous accréditation du COFRAC⁶ ou d'organisme reconnu équivalent ISO 17025.

Les méthodes d'analyse mises en œuvre pour la caractérisation du produit et le dénombrement de *Lactobacillus paracasei* sont fournies et considérées acceptables.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles près, la conformité de chaque unité de commercialisation du produit aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être utilisés de manière systématique.

Constance de composition

La constance de composition du produit relative aux éléments de marquage obligatoire est convenablement établie pour l'homogénéité et l'invariance.

Les résultats des études de stabilité présentées montrent, que le produit BACTIPI est stable sur une période de 6 mois dans un des emballages commerciaux envisagé (bidon de 10L ou cuve de 1000 L en PEHD hermétiquement fermée) conservé à l'abri de la lumière et à température ambiante (conditions de stockage préconisées).

CONCLUSIONS RELATIVES AUX PROPRIETES TOXICOLOGIQUES

Profil toxicologique

Une des matières premières présentes dans le produit est, selon sa FDS, classée pour la santé humaine. Toutefois, sa teneur dans le produit fini BACTIPI n'engendre pas de classification pour la santé humaine du produit fini.

Les espèces *Lactobacillus paracasei* ne sont pas inscrites à l'annexe III de la directive 2000/54/CE du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail.

Lactobacillus bénéficie du statut de présomption d'innocuité reconnue (Qualified Presumption of Security - QPS) tel que défini par le comité scientifique des risques biologiques de l'EFSA⁷ en raison de son utilisation séculaire dans l'alimentation. Elle est également naturellement présente dans l'environnement.

Les résultats d'analyses soumis montrent une contamination récurrente par la levure *Candida* spp. de l'ensemble des lots testés. Le ratio levures / flore lactique totale est compris entre 25 et 47 % (selon les lots). *Candida* spp. est donc globalement présent dans le produit BACTIPI à 40 % par rapport à *L. paracasei*.

Par ailleurs la ou les espèces de *Candida* retrouvées n'ayant pas été identifiées au niveau de l'espèce, il n'est pas possible de conclure sur leur potentiel infectieux. Plusieurs espèces de *Candida* spp étant des agents pathogènes.

Considérant l'ensemble de ces informations :

- BACTIPI ne devra pas être utilisé par des personnes immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur
- BACTIPI ne devra pas être utilisé sur gazon et dans les espaces verts.

L'antibiogramme soumis montre que la souche CNCM I-5643 de *Lactobacillus paracasei* composant le produit BACTIPI est sensible à des antibiotiques.

⁶ COFRAC = Comité Français d'Accréditation

⁷ EFSA = Autorité européenne de sécurité des aliments

Conformité aux exigences de l'annexe 1 de l'arrêté du 1^{er} avril 2020*Éléments traces métalliques (ETM)*

Les teneurs en As, Cd, Cr total, Cr VI, Hg, Ni, Pb, Cu et Zn (3 analyses) respectent les teneurs maximales pour les matières fertilisantes définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020⁸.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les teneurs en composés traces organiques (somme de 16 HAP) (3 analyses) respectent les teneurs maximales pour les matières fertilisantes définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020⁹.

Microbiologie

Les résultats des analyses microbiologiques (5 analyses) montrent que le produit respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020 avant et après stockage allant jusqu'à 10 mois dans les conditions de stockage préconisées (soit à l'abri de la lumière et à température ambiante).

Flux en ETM, HAP et PCB

Les teneurs en ETM, HAP et PCBs¹⁰ permettent de respecter les flux¹¹ définis pour la mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi revendiquées.

Études toxicologiques

Le résultat du test d'irritation cutanée soumis et réalisé avec le produit BACTIPI ne conduit pas à classer le produit.

Classement et conditions d'emploi proposés

La classification toxicologique du produit BACTIPI, déterminée par calcul au regard de la classification des matières premières ainsi que de leur teneur dans le produit fini et au regard des résultats expérimentaux soumis, est, au sens du règlement (CE) n° 1272/2008 : **sans classement**.

Néanmoins, s'agissant d'un produit à base de micro-organismes, la phrase de précaution « Contient *Lactobacillus paracasei*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette.

Par ailleurs, considérant l'ensemble des informations disponibles et la nature du produit (produit composé d'un micro-organisme considéré pathogène), des gants et un vêtement de protection appropriés, ainsi qu'un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3 devront être portés par l'opérateur pendant toutes les phases de préparation et d'application du produit.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

Des données ont été fournies afin de quantifier 5 médicaments (paracétamol, acide acétylsalicylique, ibuprofène, carbamazépine, oxazépam) potentiellement présents dans les urines et dans le produit BACTIPI. Concernant le paracétamol, les résultats montrent un abattement lié au procédé de fabrication du produit BACTIPI d'environ 50%. Les autres médicaments n'ont pas été retrouvés, ni dans les urines initiales, ni dans le produit BACTIPI. Il faut cependant noter qu'aucun antibiotique n'a été recherché dans les urines ou le produit BACTIPI.

⁸ Arrêté du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjuvants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation.

⁹ Arrêté du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjuvants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation.

¹⁰ PCB = polychlorobiphényle

¹¹ Guide relatif à l'évaluation des dossiers de demande relative à une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou à un permis pour des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture mentionné à l'article 2 du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjuvants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation.

Néanmoins, considérant les doses appliquées et l'abattement attendu des niveaux de résidus de médicament présents dans les urines liées aux procédés de fabrication, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur lié à la présence potentielle de résidus de médicament dans les urines.

Concernant la contamination du produit BACTIPI par la levure *Candida sp.*, la ou les espèces de *Candida* retrouvées n'ayant pas été identifiées au niveau de l'espèce, il n'est pas possible de conclure sur leur potentiel infectieux, plusieurs espèces de *Candida spp* étant des agents pathogènes.

Par conséquent, l'évaluation des risques pour le consommateur, liée à l'utilisation du produit BACTIPI en traitement de semences ou par application au sol, ne peut être finalisée pour les cultures dont les parties consommables peuvent entrer en contact direct avec le sol.

Pour les autres cultures dont les parties consommables n'entrent pas en contact avec le sol, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur dans les conditions d'emploi revendiquées.

CONCLUSIONS RELATIVES AU DEVENIR ET AU COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT ET A L'ECOTOXICITE

Des essais d'écotoxicité vis-à-vis des organismes aquatiques et des tests d'impact aigu et chronique vis-à-vis des organismes aquatiques et terrestres effectués avec le produit BACTIPI ont été fournis. Des données de la littérature sur *Lactobacillus paracasei* ou à défaut sur les bactéries lactiques (groupe dont fait partie la souche CNCM I-5643 de *Lactobacillus paracasei*) ont été proposés. Un test de persistance dans les sols du produit BACTIPI a également été réalisé.

Milieu aquatique

Des tests d'impact aigu sur daphnies et chronique sur algues ont été réalisés sur des éluats de sols artificiels standards amendés avec le produit BACTIPI à des doses d'apport équivalentes à 10, 30, 50 et 100 L/ha. Les résultats des essais ne mettent pas en évidence d'effets significatifs sur l'immobilisation des daphnies et la croissance des algues jusqu'à la dose maximale testée de 100 L/ha soit 2 fois la dose maximale annuelle d'emploi revendiquée de 50 L/ha pour le produit BACTIPI.

Des tests limites de toxicité sur daphnies ($CE_{50-48h}^{12} > 100 \text{ mg/L}$) et algues ($CE_{50-72h}^{13} > 100 \text{ mg/L}$) ont été réalisés avec le produit BACTIPI.

La valeur de référence utilisée pour l'évaluation du risque aquatique a été estimée à 1 mg/L (basée sur la $CE_{50} (48h) > 100 \text{ mg/L}$ de l'étude de toxicité sur daphnies, associé à un facteur de sécurité de 100¹⁴). La comparaison de cette valeur aux concentrations attendues dans le milieu aquatique (PEC)¹⁵ permet de conclure qu'aucun effet néfaste à court terme n'est attendu pour les organismes aquatiques suite à l'application du produit BACTIPI pour l'ensemble des usages revendiqués.

Par ailleurs, au vu des flux d'azote et de phosphore, il n'est pas attendu de risque d'eutrophisation des eaux de surface lié à l'utilisation du produit BACTIPI.

En conséquence, en considérant l'ensemble des données disponibles, aucun effet néfaste à court terme sur les organismes aquatiques lié à l'utilisation du produit BACTIPI n'est attendu pour l'ensemble des usages revendiqués.

Milieu terrestre

La souche CNCM I-5643 de *Lactobacillus paracasei* est une souche isolée à partir d'un échantillon de sol français (Gironde).

Aucune donnée bibliographique ne mentionne la présence de la souche CNCM I-5643 de *Lactobacillus paracasei* dans les sols français. Aucune donnée sur le niveau d'occurrence dans les sols n'est donc

¹² CE_{50-48h} = concentration produisant 50% d'effet après 48h d'exposition

¹³ CE_{50-72h} : concentration produisant 50% d'effet sur la croissance algale après 72h d'exposition

¹⁴ Ce facteur de sécurité est justifié sur la base des éléments disponibles permettant de caractériser le danger pour l'environnement du produit fini.

¹⁵ PEC = Predicted Environmental Concentration (Concentration prévisible dans l'environnement), ici basé sur un transfert du produit par dérive de pulvérisation vers un plan d'eau d'une surface d'un hectare et d'une profondeur de 30 cm. Faute d'abaques spécifiques, les pourcentages de dérive sont ceux définis pour les produits phytopharmaceutiques.

disponible. Cependant, *L. paracasei* a été isolée à partir de la rhizosphère de longanier dans des sols taiwanais. Les souches de *Lactobacillus paracasei* sont présentes dans divers habitats, y compris les produits laitiers et fermentés, les matières végétales et dans les voies reproductrices et gastro-intestinales d'humains et animaux.

La revue bibliographique fournie indique que les bactéries lactiques peuvent produire de l'acide lactique et d'autres acides et composés organiques comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le dioxyde de carbone (CO₂), le diacétyle (butane-2,3-dione), la reuterine et les bactériocines.

Un test de persistance du produit BACTIPI en mélange avec trois types de sols a été réalisé à des doses d'apport équivalentes à 10, 20 et 100 L/ha. Les résultats de ces essais montrent une diminution sur 6 semaines de la flore bactérienne quel que soit le type de sols. Toutefois, ce test n'est pas spécifique à la souche CNCM I-5643 de *Lactobacillus paracasei* et des incertitudes demeurent sur les conditions d'expérimentation et les résultats de ce test (Echantillon témoin contaminé (y compris par *Candida*, stérilisation des sols, méthode non spécifique, ...).

Un test d'impact réalisé sur navet (*Brassica rapa*) et avoine (*Avena sativa*) mesurant l'impact du produit BACTIPI sur la flore montre qu'aucun effet sur l'émergence et la croissance des plantes n'est attendu jusqu'à la dose maximale testée de 100 L/ha, soit 2 fois la dose maximale annuelle d'utilisation du produit BACTIPI.

Un test d'impact à court terme sur vers de terre a été réalisé sur des sols artificiels standards amendés avec le produit BACTIPI à des doses d'apport équivalentes à 10, 30 et 100 L/ha. Aucun effet significatif sur la mortalité des vers de terre n'a été observé jusqu'à la dose maximale testée de 100 L/ha, soit 2 fois la dose maximale annuelle d'emploi revendiquée de 50 L/ha pour le produit BACTIPI.

En conséquence, en considérant l'ensemble des données disponibles, aucun effet néfaste à court terme sur les organismes terrestres lié à l'utilisation du produit BACTIPI n'est attendu pour l'ensemble des usages revendiqués.

Classement

BACTIPI est un produit liquide obtenu à partir d'un concentré de bactéries lactiques *Lactobacillus paracasei* CNCM I-5643 dans un milieu de croissance qui est l'urine.

Les matières premières, effluents, ne rentrent pas dans le cadre de la réglementation sur la classification des substances et préparations dangereuses (Règlement n° 1272/2008). De plus, l'ensemble des substances contenues dans ces intrants n'est pas connu de manière exhaustive. Elles peuvent néanmoins constituer une source de micropolluants divers pour les animaux et l'environnement. Il n'est pas possible d'identifier l'intégralité des dangers au sens du règlement (CE) n° 1272/2008.

Cependant, les tests réalisés sur le produit ne conduiraient pas à un classement de toxicité aiguë au sens du règlement (CE) n° 1272/2008.

CONCLUSIONS RELATIVES A L'EFFICACITE

Caractéristiques biologiques

Effets revendiqués

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit BACTIPI concernent l'amélioration du rendement, l'amélioration de la croissance aérienne, l'amélioration de la croissance et du développement racinaire, l'amélioration de la nutrition des plantes en favorisant l'assimilation des éléments nutritifs, la résistance au stress abiotique (tolérance accrue à la sécheresse) et l'amélioration de l'efficacité des engrais.

Éléments relatifs à l'efficacité intrinsèque et au mode d'action

Les revendications du produit sont basées sur la nature de sa composition : *Lactobacillus paracasei*.

Le produit BACTIPI agirait en favorisant la solubilisation des phosphates, assurant donc une meilleure biodisponibilité du phosphore pour les cultures en place. La présence de bactéries du genre

Lactobacillus mènerait à une production d'acides organiques permettant une meilleure assimilation des nutriments, via cette solubilisation.

En effet, les résultats d'un essai de laboratoire montrent un effet du produit BACTIPI sur la solubilisation du phosphate. Dans cet essai, l'effet du produit a été comparé à une solution de *Lactobacillus paracasei* pure et à deux témoins : acide lactique pur (témoin +) et eau physiologique (témoin -). Les deux doses de BACTIPI testées (1.5×10^7 et 1.5×10^6 cellules/mL) montrent les meilleurs résultats avec des halos de solubilisation bien plus élevés (21 et 19 mm) qu'avec la bactérie seule (10 mm), mais moins qu'avec l'acide lactique pur (30 mm).

Essais d'efficacité

La démonstration de l'efficacité de BACTIPI s'appuie sur 4 essais réalisés en conditions semi-contrôlées sur jeunes plants de vigne, tomate, maïs (traitement de semences) et gazon et sur 4 essais réalisés en plein champ dans les conditions d'emploi préconisées sur maïs (2 essais), soja (1 essai), laitue (1 essai).

Essais en conditions semi-contrôlés (efficacité potentielle)

Essai vigne

Cet essai a été réalisé sur des jeunes plants de vigne en pot sous serre.

Dans cet essai BACTIPI, apporté à la dose de 5 mL/L (soit 15 L/ha selon le demandeur) ou à la dose de 50 mL/L (soit 50 L/ha selon le demandeur) en pulvérisation du sol ou en mélange au terreau ou à la dose de 50 mL/L via l'irrigation en situation de stress hydrique, est comparé à un témoin non traité. Des notations sont réalisées sur la hauteur du feuillage, le poids frais et sec des feuilles, la longueur et le volume racinaire et le poids sec des racines (2 notations à un mois d'intervalle).

Les résultats de cet essai montrent un effet significatif de BACTIPI apporté par pulvérisation du sol à la dose de 50 mL/L sur la croissance foliaire seulement à la première notation. Aucun effet significatif n'est observé sur la croissance racinaire par rapport au témoin n'ayant pas reçu de dose de BACTIPI.

En l'absence d'une modalité témoin adaptée, il n'est pas possible de conclure sur l'efficacité de l'apport via l'eau d'irrigation.

Essai tomate

Cet essai mené sous serre sur des tomates en pots a été réalisé pour étudier l'effet de BACTIPI associé à un apport en engrais minéral. Dans cet essai toutes les modalités ont reçu une fertilisation à la plantation, à la floraison et à la production. BACTIPI a été apporté par pulvérisation au sol à différentes doses (10, 25, 50 et 100 L/ha) au moment de la plantation des tomates à la place de l'apport en azote minéral apporté au témoin (soit 75 unité d'azote). Cet essai ne présente aucun témoin sans fertilisation. Deux paramètres sont étudiés : le rendement et l'absorption des éléments majeurs, mineurs et oligo-éléments.

Les rendements en tomate et les calibres obtenus dans cet essai sont anormalement faibles. Cela témoigne d'un problème dans la réalisation de l'essai. Cet essai ne peut donc être considéré comme représentatif des conditions réelles de la culture.

Essai maïs

Cet essai a été mené pour tester l'efficacité de BACTIPI, appliqué en traitement de semences, sur la germination et la croissance (biomasse des plantules) de jeunes plants de maïs.

L'application a été réalisée par un trempage de 250 graines (de 4 variétés de maïs) dans 1.25 mL de solution. Trois modalités ont ainsi été testées : 1 modalité témoin (trempage des semences dans de l'eau), 1 modalité apportant 5×10^5 ufc/graine (soit 0,6 L de BACTIPI/quintal d'après le rapport d'essai) et 1 modalité apportant 1×10^6 ufc/graine (soit 1,2 L de BACTIPI/quintal d'après le rapport d'essai) de *Lactobacillus paracasei*.

Les résultats de cet essai montrent un gain significatif de la biomasse des plantules de maïs 7 jours après le trempage du grain pour 1 seule des 4 variétés testées à la dose testée la plus élevée de 1×10^6 ufc/graine (soit 1,2 L/quintal = 2 fois la dose revendiquée) par rapport au témoin sans apport

de BACTIPI. Les résultats de cet essai ne montrent aucune différence significative sur la germination.

Essai gazon

Cet essai mené sur gazon, semé hors-sol dans des bacs en extérieur, a été mis en place dans le but d'étudier l'effet de BACTIPI appliqué aux doses de 10, 20 ou 50 L/ha suivi de 2 apports réduit de 25 % d'engrais (NPK + MgO) en comparaison à un programme complet de fertilisation réalisé avec le même engrais (2 apports à dose pleine).

Les résultats de cet essai ne montrent aucune différence significative sur la biomasse aérienne (mesures de 4 tontes) entre les différentes modalités lors des 3 premières tontes, suggérant que BACTIPI ait pu compensé l'écart de fertilisation jusqu'à 2,5 mois après l'apport. Il manque cependant une modalité (fertilisation réduite à 75% sans apport de BACTIPI) dans le dispositif expérimental pour pouvoir s'en assurer.

Concernant la biomasse racinaire, en l'absence d'analyses statistiques considérées valides, l'évaluation de ce paramètre ne peut être finalisée.

Essais dans les conditions d'emploi préconisées

Essai maïs 1

Cet essai mis en place en plein champ sur maïs vise à démontrer l'effet de BACTIPI en remplacement d'un engrais minéral (DAP : di-ammonium phosphate).

Dans son ensemble, ce premier essai sur maïs ne permet pas d'étayer l'efficacité du produit BACTIPI par rapport à la croissance ou encore l'assimilation des éléments minéraux : le dispositif expérimental (disposition des blocs) est critiquable; il manque le détail des analyses statistiques; les résultats de ces analyses sont incohérents; il manque également une modalité dans le dispositif expérimental permettant de s'assurer de l'intérêt de BACTIPI.

Essai maïs 2

Ce second essai mené sur maïs en plein champ a pour objectif d'étudier, d'une part, 2 types d'applications de BACTIPI (localisé ou en plein) appliqué seul aux doses de 10 ou 25 L/ha, et d'autre part, l'intérêt de BACTIPI couplé à une fertilisation réduite (50%) et comparée à une fertilisation complète ou réduite.

Les résultats de cet essai ne montrent aucun effet positif significatif lié à BACTIPI sur les variables mesurées : vigueur, densité de levée, NDVI¹⁶, hauteur de plants, date de floraison, analyse foliaires (N, P, K, Mg, Fe, B, Cu), rendement en grain et humidité et analyse nutritionnel des grains (N, P, K, Mg, Fe, B, Cu).

Essai soja

Dans cet essai mis en place sur soja en plein champ, BACTIPI est appliqué une fois aux doses de 20 et de 40 L/ha.

Les résultats de cet essai ne montrent aucun effet significatif positif ni sur le rendement ni la hauteur des plants lié à BACTIPI par rapport au témoin non traité et au témoin eau.

Essai laitue

Cet essai mené sur laitue en plein champ a été mis en place dans le but de mettre en évidence un gain de rendement lorsque BACTIPI est associé à un programme de fertilisation réduit en phosphore. BACTIPI est apporté dilué au dixième par irrigation juste avant la plantation de la laitue. Les poids moyens et les poids moyens commercialisables (en grammes) ont été mesurés.

Les résultats de cet essai montrent qu'il est possible que BACTIPI ait compensé l'écart de fertilisation. En effet BACTIPI associé à une fertilisation en phosphore réduite à 50% permet d'atteindre un niveau significativement similaire par rapport à une fertilisation complète. Cependant,

¹⁶ Normalized Difference Vegetative Index

en l'absence d'une modalité de comparaison appropriée (témoin fertilisé à 50% de réduction de la fertilisation en phosphore), il n'est pas possible de finaliser l'évaluation de cet essai.

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi proposé par le demandeur est suffisant pour permettre une bonne utilisation du produit BACTIPI.

Conclusions sur les revendications et la dénomination de classe et de type

Sur grandes cultures, seuls des essais sur maïs et soja (3 essais) ont été fournis. Les données de ces essais ne permettent pas de soutenir les effets revendiqués.

En l'absence d'essai dans les conditions d'emploi préconisées pour la vigne et pour le traitement de semences du maïs, l'évaluation de l'efficacité du produit au regard des effets revendiqués ne peut être finalisée pour ces usages.

Les seuls essais fournis sur tomate, laitue et gazon n'étant pas considérés valides sur le plan expérimental, l'évaluation de l'efficacité du produit sur ces cultures ne peut être finalisée.

En l'absence de donnée, l'évaluation de l'efficacité de BACTIPI sur cultures florales, cultures légumières autres que tomate et laitue, toutes cultures en traitement de semences autres que le maïs, pépinières et espaces verts ne peut être conduite.

La dénomination de classe et de type qui pourrait être proposée est : « Préparation bactérienne – Solution concentrée de *Lactobacillus paracasei* souche CNCM I-5643 dans leur milieu de culture (urine humaine) ».

SYNTHESE DES RESULTATS DE L'EVALUATION

En se fondant sur les données soumises par le demandeur et évaluées dans le cadre de cette demande conformément aux dispositions réglementaires nationales, ainsi que sur l'ensemble des éléments dont elle a eu connaissance, la Direction d'évaluation des produits réglementés estime que :

- A.** La caractérisation du produit BACTIPI est considérée insuffisante. En effet, l'ensemble des informations disponibles ne permet pas une identification du micro-organisme composant BACTIPI au niveau de la souche.

La caractérisation et la constance de composition (homogénéité et invariance) du produit BACTIPI sont convenablement établies pour les paramètres déclarables revendiqués.

Les données de l'étude de stabilité montrent que le produit est stable 6 mois dans l'emballage commercial d'origine fermé (cuves de 1000 L ou bidons de 10 L en PEHD) conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière.

- B.** Dans le cadre des usages et des conditions d'emploi retenus suite à l'évaluation, le produit BACTIPI est considéré comme conforme aux dispositions réglementaires pour les contaminants chimiques et biologiques pour lesquels il existe une valeur de référence.

Considérant l'ensemble des éléments disponibles, aucun effet néfaste pour l'homme ou l'environnement lié à l'utilisation du produit BACTIPI n'est attendu dans les conditions d'emploi retenues suite à l'évaluation.

- C.** Sur grandes cultures, seuls des essais sur maïs et soja (3 essais) ont été fournis. Les données de ces essais ne permettent pas de soutenir les effets revendiqués.

En l'absence d'essai dans les conditions d'emploi préconisées pour la vigne et pour le traitement de semences du maïs, l'évaluation de l'efficacité du produit au regard des effets revendiqués ne peut être finalisée pour ces usages.

Les seuls essais fournis sur tomate, laitue et gazon n'étant pas considérés valides sur le plan expérimental, l'évaluation de l'efficacité du produit sur ces cultures ne peut finalisée.

En l'absence de donnée, l'évaluation de l'efficacité de BACTIPI sur cultures florales, cultures légumières autres que tomate et laitue, toutes cultures en traitement de semences autres que le maïs, pépinières et espaces verts ne peut être conduite.

La dénomination de classe et de type qui pourrait être proposée est : « Préparation bactérienne – Solution concentrée de *Lactobacillus paracasei* souche CNCM I-5643 dans leur milieu de culture (urine humaine) ».

CONCLUSIONS

La conformité ou l'absence de conformité aux dispositions réglementaires nationales, **dans les conditions d'étiquetage et d'emploi décrites aux points II et IV et des compléments d'information et suivis de production listés au point V**, est précisée ci-après.

I. Usages : résultats de l'évaluation pour une autorisation de mise sur le marché du produit BACTIPI

Cultures	Doses maximales par apport (L/ha)	Nombres maximaux d'apports par an	Volume de dilution (En litre)	Mode d'apport	Epoques d'apport	Conclusion (commentaires)
Grandes cultures*	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis et en post-semis au début du cycle végétatif	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non conforme (efficacité non démontrée)
Vigne	50	6	80 à 500	Apport au sol	Avant, pendant et en post plantation	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non finalisé (Absence d'essai d'efficacité au champ)
Cultures florales	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non conforme (Absence de données d'efficacité)
Tomate	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non finalisé (Essai d'efficacité non valide)

Cultures	Doses maximales par apport (L/ha)	Nombres maximaux d'apports par an	Volume de dilution (En litre)	Mode d'apport	Epoques d'apport	Conclusion (commentaires)
Laitue	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme et innocuité pour l'homme) Non finalisé (Essai d'efficacité non valide)
Autres cultures légumières*	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non conforme (Absence de données d'efficacité)
Pépinières	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non conforme (Absence de données d'efficacité)
Espaces verts	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis, en post-semis au début du cycle végétatif	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme et innocuité pour l'homme) Non conforme (Absence de données d'efficacité)
Gazon	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis, en post-semis au début du cycle végétatif	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme et innocuité pour l'homme) Non finalisé (Essai d'efficacité non valide)
Maïs	0,6 L/quintal	1	-	Traitement de semences	Semis	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non finalisé (Absence d'essai d'efficacité au champ)
Autres cultures*	0,6 L/quintal	1	-	Traitement de semences	Semis	Non conforme (Identification incomplète du micro-organisme) Non conforme (Absence de données d'efficacité)

* A l'exception des cultures dont les parties consommables peuvent entrer en contact avec le sol (par exemple certaines cultures légumières, betteraves, pomme de terre...).

II. Résultats de l'évaluation pour les éléments de marquage obligatoire et les teneurs garanties pour une autorisation de mise sur le marché du produit BACTIPI

Paramètres déclarables	Teneurs garanties retenues (sur produit brut)
<i>Lactobacillus paracasei</i> CNCM I-5643	1.10 ⁶ ufc*/mL
pH	3.5

* Unité Formant Colonie

III. Classification du produit BACTIPI au sens du règlement (CE) n° 1272/2008

Sans classement

IV. Conditions d'emploi

Les conditions d'emploi précisées ci-dessous sont issues de l'évaluation, pour chaque section du dossier pour laquelle l'usage revendiqué pourrait ainsi être considéré comme conforme. Il convient de les reprendre et/ou de les adapter au regard des usages qui seront effectivement accordés.

Port de gants et d'un vêtement de protection appropriés, ainsi que d'un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3 pendant toutes les phases de préparation et de traitement¹⁷.

Contient du *Lactobacillus paracasei*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation.

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

Ne pas appliquer sur les cultures dont les parties consommables peuvent entrer en contact avec le sol.

Ne pas appliquer sur prairies et espaces verts.

Durée maximale de stockage avant utilisation : 6 mois dans l'emballage commercial d'origine fermé (cuves de 1000 L ou bidons de 10 L en PEHD) conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Mots-clés : BACTIPI – urine – *Lactobacillus paracasei* CNCM I-5643 – grandes cultures - cultures légumières - cultures florales-pépinières - espace vert et gazon - FSIM.

¹⁷ Il est de la responsabilité du demandeur d'indiquer avec précision le type d'EPI (équipement de protection individuelle) en fonction des tâches à effectuer, ainsi que leur gestion (utilisation, nettoyage, stockage).

ANNEXE 1

Caractéristiques revendiquées par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit BACTIPI

(Formulaire cerfa n° 16073*01 du 24/09/2021)

Paramètres déclarables	Teneur garantie selon la déclaration du demandeur (sur produit brut)
<i>Lactobacillus paracasei</i> CNCM I-5643	1.10 ⁶ ufc*/mL
pH	3.5

* Unité Formant Colonie

Usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit BACTIPI

(Formulaire cerfa n° 16073*01 du 24/09/2021)

Cultures	Doses maximales par apport (L/ha)	Nombres maximaux d'apports par an	Volume de dilution (En litre)	Mode d'apport	Epoques d'apport
Grandes cultures et Cultures industrielles	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis et en post-semis au début du cycle végétatif
Vigne	50	6	80 à 500	Apport au sol	Avant, pendant et en post plantation
Cultures florales	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative
Cultures maraîchères (à l'exception de celles dont les parties consommables peuvent entrer en contact avec le sol)	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative
Pépinière	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis ou à la plantation et au cours de la croissance végétative
Espaces verts et Gazon	50	6	80 à 500	Apport au sol	En pré-semis, au semis, en post-semis au début du cycle végétatif
Toutes cultures	0.6	1	-	Traitement de semences	Semis