



Connaître, évaluer, protéger

Maisons-Alfort, le 3 décembre 2019

Conclusions de l'évaluation

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché du laboratoire COBIOTEX pour le produit COBIOSTIM

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 adjoints 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 adjoints 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.

PRÉSENTATION DE LA DEMANDE

L'Anses a accusé réception d'une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) du laboratoire COBIOTEX pour le produit COBIOSTIM.

La production du produit COBIOSTIM est actuellement en phase pilote.

Le produit COBIOSTIM est obtenu à partir de *Bacillus amyloliquefaciens* souche ISB 05. Il se présente sous forme solide (poudre mouillable) à diluer avant application et est proposé pour une utilisation dans l'eau d'irrigation (sol ou support de culture), en aspersion/pulvérisation au champ ou en serre et dans une solution nutritive (culture en hydroponie). Ce produit est également proposé en mélange avec des supports de culture (ex : terreau de rempotage) et des amendements avant leur épandage au champ.

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit COBIOSTIM concernent la stimulation de la croissance des plantes et l'accroissement du rendement.

Les caractéristiques garanties et les usages revendiqués par le demandeur pour le produit COBIOSTIM 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 la « Note d'information aux demandeurs concernant l'homologation des MFSC² » (en cours de révision).

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 le « Guide pour la constitution des dossiers de demande d'homologation Matières fertilisantes - Supports de culture » (formulaire cerfa n° 50644#01), sous réserve de l'utilisation des matières fertilisantes, des adjoints pour matières fertilisantes et des supports de culture dans le respect des bonnes pratiques agricoles.

¹ Les principes de la mise sur le marché des matières fertilisantes, des adjoints 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 Note d'information aux pétitionnaires concernant l'homologation des matières fertilisantes et supports de culture (MFSC) : Etat des exigences scientifiques - 1 août 2013.

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

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 5 novembre 2019, 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 COBIOSTIM, telles que décrites sur le formulaire cerfa n° 11385 et la fiche d'information, permettent de le caractériser et sont conformes aux dispositions réglementaires.

Le demandeur indique que la souche ISB 05 de *Bacillus amyloliquefaciens* est une souche sauvage isolée de litière bovine en France, non manipulée génétiquement. Cette souche a été déposée à la Collection Nationale de cultures de micro-organismes (CNCM, Institut Pasteur) sous le numéro d'accès CNCM I-1435 le 8 juin 1994.

L'identification et la caractérisation de la souche ISB 05 de *Bacillus amyloliquefaciens* sont établies par différents approches phénotypiques (coloration de Gram, profil biochimique, sensibilité aux antibiotiques) et génotypiques (séquençage de l'ADNr³ 16S, confirmé par une comparaison de séquences de 29 gènes de ménage de souches proches). Une validation des résultats a été effectuée avec une hybridation ADN-ADN *in silico*, confirmant l'identification à la souche.

L'ensemble des méthodes de caractérisation et d'identification du micro-organisme au niveau de la souche ISB 05 de *Bacillus amyloliquefaciens* est considéré acceptable.

Par ailleurs, le demandeur précise que la souche ISB 05 de *Bacillus amyloliquefaciens* est taxonomiquement distincte de la souche ISB 06 de *Bacillus amyloliquefaciens*, autorisée pour un usage biocide [type de produit 3, règlement (EU) n° 2016/1085], en s'appuyant sur les résultats du séquençage génomique des 2 souches et leur analyse phylogénique.

Le procédé de fabrication du produit COBIOSTIM repose sur la fermentation stérile mono souche à partir d'un cryotube. Le produit-semi fini obtenu, appelé super concentré, est mis sur un support nutritif (dextrose) puis mélangé avec un anti-mottant.

Chaque lot de production correspond à 750 kg, conditionné et commercialisé en seau de 5 L.

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 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 dangers physico-chimiques particuliers.

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.

Les laboratoires mandatés pour conduire les analyses présentées dans le dossier sont accrédités par le COFRAC⁴ ou par un organisme reconnu équivalent ISO 17025 : 2005.

³ ADNr = acide ribonucléique

⁴ COFRAC = comité français d'accréditation

Par ailleurs, la méthode d'analyse mise en œuvre pour le dénombrement des spores viables dans le produit COBIOSTIM est conduite selon les méthodes standardisées (NF V08-250 et ISO 4833-2).

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 COBIOSTIM relative aux éléments de marquage obligatoire est convenablement établie.

Les données de l'étude de stabilité montrent que le produit est stable dans l'emballage commercial pendant 14 mois à température ambiante. Par ailleurs, les résultats d'une étude de stockage

à 30°C montrent que le produit est stable pendant 16 semaines.

À noter que l'étude de la constance de composition du produit COBIOSTIM a été conduite, soit sur un produit similaire, soit sur une formulation pilote.

En conséquence, l'homogénéité et l'invariance du produit COBIOSTIM devront être confirmées sur la production industrielle.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX PROPRIÉTÉS TOXICOLOGIQUES ET A L'EXPOSITION DE L'OPÉRATEUR

Profil toxicologique

Bacillus amyloliquefaciens n'est pas inscrit 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 et certaines de ses souches font l'objet d'une utilisation en alimentation animale. *Bacillus amyloliquefaciens* est recommandé pour la liste de la présomption d'innocuité qualifiée (2013)⁵ si la souche ne présente pas d'activité toxigène et ne contient aucun gène de résistance antimicrobienne acquis à des antibiotiques cliniquement pertinents.

Bacillus amyloliquefaciens ISB 05 est une souche naturelle, largement répandue dans les sols. Ce micro-organisme peut être isolé sous deux stades différents : spores (endospores) et cellules végétatives.

L'analyse des données du séquençage du génome de la souche ISB 05 indique que cette souche a la capacité de produire des polycétides (bacillaene, difficidine et macrolactine). La production de ces polycétides est caractéristique de toutes les souches de *B. amyloliquefaciens* associées aux plantes.

La souche ISB 05 de *B. amyloliquefaciens* est également capable de produire des lipopeptides cycliques par synthèse non ribosomique (surfactine, bacillomycine D, iturine A, mycosubtiline et fengycine). Ces lipopeptides ne sont pas produits de manière constitutive mais leur production est induite par le contact avec d'autres bactéries ou champignons et ils jouent un rôle dans la rhizosphère.

Par ailleurs, la souche ISB 05 n'a pas le potentiel génétique pour produire les toxines de type émétique ou diarrhéique typiquement produites par les espèces du groupe *Bacillus cereus*.

B. amyloliquefaciens souche ISB 05 ne produit pas de toxines extracellulaires et est généralement considérée comme ayant un faible degré de virulence chez l'homme.

La sensibilité de la souche ISB 05 de *Bacillus amyloliquefaciens* aux antibiotiques a été testée selon les recommandations de l'EFSA⁶ sur une gamme représentative d'antibiotiques couramment utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Les résultats de ces tests montrent que la souche ISB 05 de *B. amyloliquefaciens* est sensible aux antibiotiques testés (vancomycine, gentamycine, kanamycine, streptomycine, érythromycine, clindamycine, tétracycline et chloramphénicol).

⁵ Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA (EFSA 2013).

⁶ EFSA journal 2012 ; 10 (6) : 2740, iso 10932

Les rapports d'infections avec des bactéries sporulantes aérobies en dehors du groupe *B. cereus* sont relativement rares, mais très divers, et se produisent généralement chez les patients immunodéprimés ou ceux avec des dispositifs implantés ou un traumatisme.

Le demandeur déclare qu'aucune indication d'effets toxicologiques ou allergéniques au laboratoire ou à l'équipe de production impliquée dans la production ou l'emballage de produits à base de souche ISB 05 *Bacillus amyloliquefaciens* depuis 1996 n'a été observée. Aucun incident ni aucune réaction allergique, sensibilisation ou irritation ne s'est produit.

Les autres matières premières entrant dans la composition du produit COBISOTIM ne présentent pas, selon les fiches de données de sécurité soumises pour ces matières premières, de danger pour la santé humaine au sens du règlement (CE) n° 1272/2008⁷.

Analyses réglementaires

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité⁸ pour l'autorisation de mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi préconisées.

Aucune analyse relative aux composés traces organiques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et 7 PCBs⁹) n'a été fournie. Cependant, compte tenu de la nature des matières premières et du procédé de fabrication, il n'est pas attendu de contamination du produit par des micropolluants organiques.

Les résultats des analyses microbiologiques, conduites avant et après stockage de 14 mois sur un échantillon issu d'un lot, montrent que le produit COBIOSTIM respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques de référence⁵.

Il est rappelé que les lots ne respectant pas les valeurs microbiologiques de référence ne pourront pas être mis sur le marché dans le cadre de l'AMM et devront être déclassés.

Granulométrie

Les résultats de l'analyse granulométrique réalisée sur le produit COBIOSTIM montrent que la teneur en poussières (55% des particules de taille inférieure à 63 µm) conduit à recommander une protection respiratoire.

Etudes toxicologiques

Aucun essai de toxicologie réalisé sur le produit COBIOSTIM n'a été soumis.

Classement et conditions d'emploi proposés

La classification toxicologique du produit COBIOSTIM, déterminée par calcul au regard de la classification des matières premières ainsi que de leur teneur dans le produit fini, 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 *Bacillus amyloliquefaciens*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette.

De plus, le produit COBIOSTIM ne devra pas être utilisé par des personnes immunodéprimées ou sous traitement immunosupresseur.

Par ailleurs, considérant l'ensemble des informations disponibles et la nature du produit (produit sous forme de poudre composé d'un micro-organisme), 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 pendant toutes les phases de préparation et d'application du produit.

⁷ Règlement (CE) n° 1272/2008 = Règlement du Parlement Européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges

⁸ Tels que définis à l'Annexe VII du formulaire cerfa n° 50644#01 « Guide pour la constitution des dossiers de demande d'homologation Matières fertilisantes - Supports de culture »

⁹ PCB = polychlorobiphényle

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

Considérant la composition du produit (*Bacillus amyloliquefaciens* souche ISB 05) et l'ensemble des informations fournies, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur lié à l'utilisation du produit COBIOSTIM.

CONCLUSIONS RELATIVES AU DEVENIR ET AU COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT ET A L'ECOTOXICITE*Devenir dans l'environnement du micro-organisme*

La souche ISB 05 de *Bacillus amyloliquefaciens* est une souche isolée à partir de litière bovine prélevée dans le sud-ouest de la France et n'a pas été génétiquement modifiée. Sur la base des éléments proposés par le demandeur et complétés par l'Agence, les bactéries *B. amyloliquefaciens* sont naturellement présentes dans la rhizosphère, dans les sols et dans l'eau. Il n'est pas attendu que les bactéries de l'espèce *B. amyloliquefaciens* persistent dans les sols. La survie de *B. amyloliquefaciens* est contrôlée en partie par des facteurs abiotiques et biotiques et la compétition vis-à-vis des autres organismes du sol.

Ecotoxicité du micro-organisme

Aucune étude de toxicité vis-à-vis des organismes non cibles n'a été fournie pour le produit COBIOSTIM et la souche ISB 05 de *B. amyloliquefaciens*.

Sur la base des éléments fournis et disponibles (Review reports¹⁰) pour renseigner la toxicité de *Bacillus amyloliquefaciens*, aucun effet néfaste du produit COBIOSTIM n'est attendu pour les organismes terrestres et aquatiques.

Classement proposé

La classification du produit COBIOTIM à vis-à-vis de l'environnement au regard de la classification des matières premières ainsi que de leur teneur dans le produit fini, est, au sens du règlement (CE) n°1272/2008 : sans classement.

CONCLUSIONS RELATIVES A L'EFFICACITE**Caractéristiques biologiques***Effets revendiqués*

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit COBIOSTIM concernent la stimulation de la croissance des plantes et l'accroissement du rendement (formulaire cerfa n° 11385 du 05/11/2018).

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

Les revendications du produit sont basées sur la nature de ses éléments de composition : *Bacillus amyloliquefaciens* souche ISB 05.

Les *Bacillus amyloliquefaciens* appartiennent au groupe des bactéries de la rhizosphère qui solubilisent le phosphore et seraient ainsi bénéfiques à la croissance de la plante (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

Le mode d'action proposé par le demandeur s'appuie sur l'analyse du séquençage du génome de la souche de *Bacillus amyloliquefaciens* ISB 05 et reposeraient notamment sur la solubilisation du phosphore, la production de phytohormones et la production de lipopeptides cycliques.

¹⁰ Final Review report for the active substance *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI 600, SANTE/10008/2016 Rev. 2 12 July 2016; Final Review report for the active substance *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* strain D747, SANCO/11391/2014 rev 1 10 October 2014; Final Review report for the active substance *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB24, SANTE/12037/2016 Rev. 1 23 March 2017; Review report for the active substance *Bacillus amyloliquefaciens* (forme *subtilis*) str. QST 713, SANCO/10184/2003 - rev. final 14 July 2006

Essais d'efficacité

La démonstration de l'efficacité du produit COBIOSTIM s'appuie sur 2 essais d'efficacité réalisés sur tomate et salade. Ces études ont été réalisées sous serre dans des godets carrés avec 800 mL de terreau. Le produit COBIOSTIM est appliqué à la dose revendiquée de 0,1 kg/ha (correspondant à 10^{10} UFC par ha) par arrosage du support de culture via l'irrigation.

Les résultats de ces essais montrent une augmentation significative de la hauteur et de la surface foliaire des plants de salade en comparaison du témoin sans application. Pour ce qui concerne la tomate, aucune différence significative n'est observée sur le poids des fruits en comparaison au témoin sans application.

Aucun essai n'a été soumis pour les autres modes d'application revendiqués (pulvérisation foliaire, mélange à un support de culture ou un amendement). Par ailleurs, les extrapolations proposées par le demandeur, entre le mode d'application testé (via le système d'irrigation) et ces modes d'application, ne sont pas jugées acceptables.

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi indiqué est suffisant pour permettre une bonne utilisation du produit.

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

Considérant l'ensemble des données d'efficacité présentées, seule la revendication relative à la stimulation de la croissance des plantes peut être considérée comme soutenue pour des applications en ferti-irrigation sur salade. Les effets mesurés concernent la hauteur des plantes et la surface foliaire de la salade cultivée sous serre en ferti-irrigation.

Aucun essai n'a été soumis pour les autres modes d'application revendiqués (pulvérisation foliaire, mélange à un support de culture ou un amendement).

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation bactérienne » - « Inoculum solide (poudre mouillable) de *Bacillus amyloliquefaciens* souche ISB 05 ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique et/ou biocide ne devrait être faite sur les supports d'information et de communication.

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 et la constance de composition du produit COBIOSTIM sont établies.

Les données de l'étude de stabilité montrent que le produit est stable dans l'emballage commercial pendant 14 mois à température ambiante.

Il conviendra de confirmer la constance de composition du produit COBIOSTIM sur la production industrielle.

B. Dans le cadre des usages et des conditions d'emploi retenus suite à l'évaluation, le produit COBIOSTIM 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 COBIOSTIM n'est attendu dans les conditions d'emploi retenues suite à l'évaluation.

C. Considérant l'ensemble des données d'efficacité présentées, seule la revendication relative à la stimulation de la croissance des plantes peut être considérée comme soutenue pour des applications en ferti-irrigation sur salade. Les effets mesurés concernent la hauteur des plantes et la surface foliaire de la salade cultivée sous serre en ferti-irrigation.

Aucun essai pour les autres modes d'application revendiqués (pulvérisation foliaire, mélange à un support de culture ou un amendement) n'a été soumis.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation bactérienne » - « Inoculum solide (poudre mouillable) de *Bacillus amyloliquefaciens* souche ISB 05 ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique ou biocide ne devrait être faite sur les supports d'information et de communication.

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 COBIOSTIM

Mode d'apport	Culture	Dose par apport	Nombre d'apports par an*	Nombre de germes par hectare	Volume de dilution	Epoques d'apport	Conclusion (commentaires)
Ferti-irrigation	Salades	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-	A partir du stade jeune plant et jusqu'à la récolte ou la fructification	Conforme (stimulation de la croissance des plantes) Montrée sur la hauteur et la surface foliaire de la laitue romaine cultivée sous serre
Ferti-irrigation	Cultures maraîchères autres que salades	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-	A partir du stade jeune plant et jusqu'à la récolte ou la fructification	Non finalisé (absence d'essai d'efficacité)
	Cultures spécialisées (pomme de terre, cucurbitacées, protéagineux...)	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-		
	Cultures ornementales	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-		
Pulvérisation foliaire ou hydroponie	Grandes cultures (blé, orge, colza, légumineuses..)	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L	A partir du stade jeune plant et jusqu'à la récolte ou la fructification	Non finalisé (absence d'essai d'efficacité)
	Cultures maraîchères	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L		
	Cultures spécialisées (pomme de terre, cucurbitacées, protéagineux...)	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L		
	Cultures ornementales	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L		

Mode d'apport	Culture	Dose par apport	Nombre d'apports par an*	Nombre de germes par hectare	Volume de dilution	Epoques d'apport	Conclusion (commentaires)
Mélange avec support de culture ou amendement	-	0,01 à 0,1 g/m ³	1 à 12	1.10 ⁶ à 1.10 ⁷ /m ³	-	A partir du stade jeune plant (rempotage, croissance)	Non finalisé (absence d'essai d'efficacité)

Aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique ou biocide ne devrait être faite sur les supports d'information et de communication.

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 COBIOSTIM

Paramètre déclarable retenu	Teneur minimale garantie retenue
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> souche ISB 05	10 ⁸ spores (ufc) / gramme

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

Sans classement.

IV. Conditions d'emploi

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

La mention : « Contient *Bacillus amyloliquefaciens*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette.

Port de gants, vêtements de protection appropriés et un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3, devront être portés pendant toutes les phases de préparation et d'application du produit.

Durée maximale de stockage avant utilisation : 14 mois à température ambiante dans l'emballage commercial d'origine fermé.

V. Données post-autorisation

Les compléments d'information et de suivi de production suivants devront être tenus à disposition en vue d'éventuels contrôles et transmis à l'Anses au plus tard 9 mois¹¹ avant l'échéance de l'autorisation de mise sur le marché, sauf indications contraires précisées ci-dessous :

Type	Compléments et suivis post-autorisation requis
Analyses	<p>Effectuer, au moins tous les six mois, sur des échantillons représentatifs de la matière fertilisante telle qu'elle est mise sur le marché et selon les méthodes spécifiées ci-après, des analyses portant au moins sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> - l'élément figurant sur l'étiquetage : teneur en <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> souche ISB 05 ; - les micro-organismes totaux, entérocoques, <i>Escherichia coli</i>, <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, nématodes, levures et moisissures, <i>Aspergillus</i>, <i>Pythium</i>.

¹¹ Conformément au code rural et de la pêche maritime.

Type	Compléments et suivis post-autorisation requis
Analyses	<p>Les analyses doivent avoir été effectuées par un laboratoire accrédité selon la norme NF EN/ISO IEC 17025 par le Comité français d'accréditation (Cofrac), ou par tout autre organisme national d'accréditation exerçant son activité conformément au règlement CE n° 765/2008, dans le domaine d'analyse des matières fertilisantes et supports de culture. L'emploi de toute autre méthode doit être justifié et il convient d'utiliser en priorité les méthodes normalisées ou standardisées. L'emploi de toute autre méthode doit être justifié. Le cas échéant, fournir la méthode utilisée, sa justification ainsi que les éléments nécessaires à sa validation. Dans tous les cas, les références des méthodes employées doivent être précisées.</p> <p>Il conviendrait que le responsable de la mise sur le marché conserve à 4°C pendant les 12 mois suivant la mise sur le marché, un échantillon représentatif de chacun des lots, en vue d'éventuelles analyses complémentaires rendues nécessaires par une information tardive sur les matières premières ou un éventuel problème constaté par les utilisateurs de la matière fertilisante</p> <p>Confirmer la constance de composition (homogénéité, invariance et stabilité) du produit COBIOSTIM dès le passage à la production industrielle.</p>

Mots-clés : COBIOSTIM - *Bacillus amyloliquefaciens* souche ISB 05 – grandes cultures, maraîchage, horticulture, cultures spécialisées, support de culture, amendement – poudre mouillable – FSIM.

ANNEXE 1

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

Paramètres déclarables	Teneur garantie selon la déclaration du demandeur (sur produit brut)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> souche ISB 05	10 ⁸ spores (ufc) / gramme

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

(Formulaire cerfa n° 11385 du 05/11/2018)

Culture	Dose par apport	Nombre d'apports par an*	Nombre de germes par hectare	Volume de dilution	Mode d'apport	Epoques d'apport
Cultures maraîchères	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-	Ferti-irrigation	A partir du stade jeune plant et jusqu'à la récolte ou la fructification
Cultures spécialisées (pomme de terre, cucurbitacées, protéagineux...)	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-		
Cultures horticoles	0,05 à 0,1 kg/ha	1 à 24	5.10 ⁹ à 1.10 ¹⁰	-		
Grandes cultures (blé, orge, colza, légumineuses..)	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L	Pulvérisation foliaire ou hydroponie	A partir du stade jeune plant et jusqu'à la récolte ou la fructification
Cultures maraîchères	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L		
Cultures spécialisées (pomme de terre, cucurbitacées, protéagineux...)	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L		
Cultures horticoles	0,001 à 0,005 kg/ha	1 à 24	1.10 ⁸ à 5.10 ⁸	1 à 5 g/100 L		
Mélange avec support de culture ou amendement	0,01 à 0,1 g/m ³	1 à 12	1.10 ⁶ à 1.10 ⁷ /m ³	-	Mélange avec support de culture ou amendement	A partir du stade jeune plant (rempotage, croissance)