

Maisons-Alfort, le 25 janvier 2016

Conclusions de l'évaluation

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante I-4613 de la société XURIAN ENVIRONNEMENT

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 pour la matière fertilisante I-4613 de la société XURIAN ENVIRONNEMENT.

La matière fertilisante I-4613 est obtenue à partir d'un inoculum de *Pseudomonas putida* souche I-4613. Cette préparation bactérienne est destinée à améliorer la biomasse, la composition du végétal et le rendement des cultures.

La matière fertilisante I-4613 se présente sous forme solide (poudre) à diluer avant utilisation et est proposée pour une application au semis, en plein ou en localisé (raie de semis).

Les caractéristiques garanties ainsi que les usages revendiqués par le pétitionnaire pour la matière fertilisante I-4613 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 pétitionnaires concernant l'homologation des MFSC².

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 adjuvants 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 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 Note d'information aux pétitionnaires concernant l'homologation des matières fertilisantes et supports de culture (MFSC) : Etat des exigences scientifiques - 1 août 2013.

SYNTHESE DE L'EVALUATION

Après évaluation de la demande et avec l'accord d'un groupe d'experts du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture", réuni le 12 janvier 2016, la Direction d'évaluation des produits réglementés émet les conclusions suivantes.

CONCLUSIONS RELATIVES A LA CARACTERISATION DE LA MATIERE FERTILISANTE ET A LA QUALITE DE LA PRODUCTION

Caractérisation et procédé de fabrication

Les spécifications de la matière fertilisante I-4613 telles que décrites sur le formulaire Cerfa n° 11385 et la fiche d'information permettent sa caractérisation et sont conformes aux exigences réglementaires.

La matière fertilisante I-4613 est obtenue par culture de la souche *Pseudomonas putida* souche I-4613 (fermentation en milieu liquide), lyophilisation et mélange au support de formulation. Chaque lot de production correspond à 1,6 tonne. Un lot de commercialisation correspond à 10 kg (sac plastique dans un seau métallique).

La souche I-4613 est une souche naturelle (non génétiquement modifiée) isolée d'un sol argilo-calcaire dans l'Hérault (France). Cette souche fait partie de la collection interne de la société XURIAN Environnement et est déposée sous le numéro I-4613 dans la Collection Nationale de Culture de Micro-organismes (CNCM, Institut Pasteur, France).

Le système de contrôle 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 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.

Constance de composition

La constance de composition de la matière fertilisante I-4613 (relative aux éléments de marquage obligatoire) est convenablement établie pour l'homogénéité et l'invariance.

Les données de l'étude de stabilité montrent que la matière fertilisante est stable dans son emballage commercial sur une durée de 12 mois à 4 et 20 °C.

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 décrite.

Les analyses présentées ont été effectuées par un laboratoire accrédité par le COFRAC³ sur le programme 108.

Les méthodes d'analyse mises en œuvre pour la caractérisation et le dénombrement bactérien de la matière fertilisante I-4613 sont considérées comme acceptables.

La méthode de caractérisation du micro-organisme au niveau de la souche I-4613 de *Pseudomonas putida* (marqueurs SCAR⁴, séquençage de l'ARN⁵ 16S, fluorescence) a été soumise et est considérée acceptable.

³ COFRAC = Comité Français d'Accréditation

⁴ SCAR = sequence-characterized amplified région

⁵ ARN = acide ribonucléique

Il est rappelé que, aux écarts admissibles près, la conformité de chaque unité de commercialisation de la préparation aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise, et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique. Les lots non-conformes sur ces critères devront être déclassés selon la procédure prévue par le pétitionnaire.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX PROPRIETES TOXICOLOGIQUES ET A L'EXPOSITION DE L'OPERATEUR

Pseudomonas putida 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. Toutefois, des infections par *Pseudomonas putida* ont été rapportées principalement chez des personnes hospitalisées, immunodéprimées ou chez des enfants.

Aucune information relative au potentiel transfert de gènes de résistance aux antibiotiques n'a été communiquée. Cette problématique est en cours de discussion au niveau européen, des données complémentaires pourront être demandées dès lors qu'un principe d'évaluation aura été finalisé et adopté.

Les autres matières premières entrant dans la composition de la matière fertilisante I-4613 ne présentent pas de danger pour la santé humaine.

Les études fournies sur ce *Pseudomonas putida* I-4613 ne rapportent pas d'effet toxique, pathogène ou infectieux. *P. putida* produit des siderophores (pyoverdine), des métabolites de type hormone végétale (acide indole acétique) et enzymes ACC déaminases⁶, ainsi que des métabolites secondaires tels que la pyrroloquinoline quinone (PQQ), molécules à la base du mode d'action de la bactérie. Le pétitionnaire indique qu'aucun métabolite extrait de *P. putida* n'a été décrit comme toxique pour les animaux ou l'Homme.

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité⁷ pour l'autorisation de mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi préconisées.

Les teneurs en composés traces organiques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et 7 PCBs⁸) n'ont pas été mesurées. Cependant, compte tenu de la nature des matières premières et du procédé de fabrication, il n'est pas attendu de contamination de la préparation par des micropolluants organiques.

Les analyses microbiologiques ont été effectuées sur 3 échantillons issus de 3 lots différents, immédiatement après leur production et après 12 mois de stockage. Ces analyses montrent que la matière fertilisante I-4613 respecte les valeurs de référence microbiologiques⁶ pour la plupart des paramètres mesurés.

À noter toutefois, dans un seul des lots testés, une présence inexpiquée d'entérocoques au vu des matières premières et du procédé de fabrication. Par ailleurs, il convient de préciser que les résultats relatifs à la recherche des *Staphylococcus aureus*, tels qu'exprimés (jusqu'à inférieur à 100 dans un des lots testés après stockage⁹), ne permettent pas de garantir totalement que le critère d'innocuité⁷ requis pour la mise sur le marché des matières fertilisantes soit respecté. Ces contaminations, observées dans un seul et même lot, peuvent traduire un défaut de maîtrise de gestion des lots de production. Des analyses complémentaires sur les critères microbiologiques sont donc requises dans le cadre du suivi semestriel des lots de production.

De plus, la teneur en *Listeria monocytogenes* n'a pas été mesurée. Cependant, au regard des usages revendiqués (grandes cultures), la recherche de ce contaminant n'est pas considérée comme nécessaire. La matière fertilisante I-4613 présente également une forte teneur en levures et moisissures, due, selon le demandeur, à une erreur de lecture liée au milieu de culture utilisé.

⁶ ACC déaminase = 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid déaminase (enzyme intervenant dans la voie de production de l'éthylène)

⁷ 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'

⁸ PCB = polychlorobiphényle

⁹ Lot identique à celui présentant une présence inexpiquée d'entérocoques

Aucun essai toxicologique n'a été réalisé directement avec la matière fertilisante I-4613. Toutefois, plusieurs essais conduits sur *Pseudomonas putida* montrent que la souche ne présente pas de toxicité aiguë par voie orale et cutanée chez le rat, qu'elle ne provoque pas d'irritation oculaire chez le lapin et qu'elle n'est pas toxique, infectieuse ou pathogène par voie intra trachéale chez le rat.

Toutefois il s'agit d'un germe opportuniste et la revue de la littérature publiée en 2015 par Evelyn Hacki¹⁰ sur *Pseudomonas putida* montre que la bactérie est à l'origine de nombreux cas d'infections systémiques et pulmonaires, principalement chez les personnes hospitalisées, immuno-déprimées ou chez des enfants.

La matière fertilisante I-4613 ne doit pas être utilisée par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.

Aucun antibiogramme n'est fourni dans le dossier pour la souche I-4613. Il existe cependant des informations dans la littérature sur l'espèce *Pseudomonas putida*. La résistance est variable : elle est forte avec les bêtalactamines, plus faible pour les aminosides et les fluoroquinolones. *P.putida* reste toutefois sensible à la kanamycine, la tétracycline et la pipéraciline. Ces données ne sont pas spécifiques de cette souche et devront être actualisées.

La classification toxicologique pour la matière fertilisante I-4613, déterminée au regard de la classification des matières premières ainsi que de leur teneur dans le produit fini, est, au sens du règlement (CE) n° 1272/2008¹¹ : sans classement.

Néanmoins, s'agissant d'une matière fertilisante à base de micro-organismes, la phrase de précaution « Contient *Pseudomonas putida*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette. De plus, des gants et un vêtement de protection appropriés, ainsi qu'un masque anti-aérosol (EN149 FFP3 ou équivalent), devront être portés pendant toutes les phases du traitement.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

L'espèce *Pseudomonas putida* ne bénéficie pas du statut de présomption d'innocuité reconnue (QPS). De plus, des données spécifiques décrivant la nature et la toxicité des métabolites secondaires produits par cette espèce ne sont pas disponibles. Cependant, au regard des cultures (céréales à paille et maïs) et période d'apport (au semis) revendiquées, suffisamment précoce par rapport à la récolte, tout risque de contamination des denrées destinées à la consommation peut être exclu.

Ainsi, dans les conditions d'emploi revendiquées (apport limité au semis), il n'est pas attendu de risque pour le consommateur lors de l'utilisation de la préparation I-4613 sur céréales à paille et maïs.

CONCLUSIONS RELATIVES AU DEVENIR ET AU COMPORTEMENT DE LA MATIERE FERTILISANTE DANS L'ENVIRONNEMENT ET A SON ECOTOXICITE

La classification de la matière fertilisante I-4613 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

¹⁰ Evelyn Hacki¹), Margit Pacher-Zavisin²), Laura Sedman¹), Stefan Arthaber¹), Ulla Bernkopf¹), Günter Brader¹), Markus Gorfer¹), Birgit Mitter¹), Aspasia Mitropoulou¹), Monika Schmoll¹), Willem van Hoesel¹), Elisabeth Wischnitzky¹), and Angela Sessitsch¹, 2015. Literature search and data collection on RA for human health for microorganisms used as plant protection products Reference. EFSA supporting publication 2015:EN-801. 173 pp.

¹¹ Règlement (CE) n° 1272/2008 (ou CLP : « Classification, Labelling, Packaging ») 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, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006

Devenir dans l'environnement du micro-organisme

La souche I-4613 de *Pseudomonas putida* est une souche isolée dans un sol du sud de la France, qui n'a pas été génétiquement modifiée. Les bactéries *Pseudomonas putida* sont naturellement présentes dans la rhizosphère, dans les sols et dans l'eau. Toutefois, l'occurrence naturelle dans les sols et les systèmes aquatiques de la bactérie *Pseudomonas putida* ne peut être établie sur la base des éléments disponibles. Aussi, il conviendra de fournir, sur la base d'une recherche bibliographique réalisée selon les recommandations du document guide de l'EFSA (2011¹²), toute information permettant d'estimer le bruit de fond naturel de *Pseudomonas putida* dans les sols et les systèmes aquatiques afin de comparer cette valeur à la concentration attendue dans le sol suite à l'application de la matière fertilisante I-4613.

Un suivi des bactéries *Pseudomonas* du groupe fluorescens dans les sols suite à l'application de la matière fertilisante I-4613 a été réalisé dans deux études en conditions de laboratoire. Aucune différence significative de densité cellulaire à l'échelle du groupe fluorescens n'est observée entre les sols traités et le témoin. Toutefois, compte tenu, notamment, de l'absence de discrimination possible entre les bactéries *P. putida* apportées par la matière fertilisante I-4613 et les autres bactéries du groupe fluorescens ainsi que l'absence de détermination de la concentration initiale des bactéries du groupe fluorescens et plus particulièrement de *P. putida*, il n'est pas possible d'estimer précisément la persistance de *P. putida* dans les sols ni son effet sur les populations des *Pseudomonas* du groupe fluorescens. Par conséquent, des données sur la persistance/multiplication de *P. putida* dans l'environnement sont requises.

En outre, la bibliographie soumise par le pétitionnaire met en évidence que les bactéries du genre *Pseudomonas* produisent des métabolites secondaires et/ou toxines dans l'environnement. Certains des métabolites produits (e.g. sidérophores) peuvent être liés à une activité de type phytopharmaceutique du micro-organisme. Aucun élément n'a été fourni pour déterminer l'importance de la production et de la persistance de ces métabolites secondaires et/ou toxines suite à l'apport de la matière fertilisante I-4613 par rapport à ce qui est observé dans l'environnement. Il conviendrait donc de démontrer que les teneurs en métabolites secondaires et/ou toxines potentiellement produits suite à l'application de la matière fertilisante I-4613 ne seront pas supérieures à celles naturellement observées.

De plus, un transfert de matériel génétique dans l'environnement ne peut être exclu pour les *Pseudomonas*. Il conviendrait de montrer qu'aucun impact néfaste sur l'environnement de ce transfert n'est attendu.

Dans des études de mobilité réalisées en colonnes de sol artificiellement reconstituées, il a été observé que les bactéries du genre *Pseudomonas* peuvent migrer dans la colonne de sol et être mesurées dans les lixiviats. De plus, le pétitionnaire n'a pas démontré l'absence d'interaction de *Pseudomonas putida* avec les méthodes d'analyse de *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux de distribution. Par conséquent, un risque de contamination des eaux souterraines par *Pseudomonas putida* ne peut être exclu. Il conviendrait de démontrer que *Pseudomonas putida* n'interfère pas avec les méthodes d'analyse de *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux de distribution.

Ecotoxicité du micro-organisme

Concernant les organismes aquatiques, des données de la littérature indiquent que la reproduction des invertébrés aquatiques (*Daphnia similis*), exposés à une autre souche de *P. putida* à hauteur de 10^9 ufc¹³.L⁻¹, n'est pas affectée. En revanche, des effets de *Pseudomonas putida* sur des poissons d'élevage au stade juvénile ont été observés (Altinok *et al.*, 2006¹⁴). Toutefois, pour un apport de la matière fertilisante dans la raie de semis ou au sol avec incorporation superficielle, l'exposition des organismes aquatiques peut être considérée comme faible. Ainsi, il n'est pas attendu d'effets néfastes sur les poissons et les autres organismes aquatiques dans les conditions d'emploi revendiquées.

¹² European Food Safety Authority; Submission of scientific peer-reviewed open literature for the approval of pesticide active substances under Regulation (EC) No 1107/2009 (OJ L 309, 24.11.2009, p. 1-50). EFSA Journal 2011;9(2):2092. [49 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2092.

¹³ UFC = unité formant colonie.

¹⁴ Altinok, I., Kayis, S., Capkin, E. "Pseudomonas putida infection in rainbow trout". Aquaculture. December 2006. Volume 261. p.850-855

Concernant les organismes terrestres, une étude de toxicité et de pathogénicité de la souche I-4613 sur colin de Virginie a été réalisée. Aucun effet néfaste n'a été observé pour une dose d'apport via l'alimentation de 5×10^9 ufc.kg⁻¹.j⁻¹. De même, une étude de toxicité et de pathogénicité réalisée sur une autre souche de *P. putida* ne met pas en évidence d'altérations chez le rat à la dose de 10^8 ufc par rat. Ainsi, il n'est pas attendu d'effets néfastes pour des apports en *P. putida* pour les usages revendiqués incluant un enfouissement superficiel.

Par ailleurs, les éléments bibliographiques fournis ne mettent pas en évidence d'effet de *Pseudomonas putida* sur *Glomus intraradices* lorsque les deux micro-organismes sont simultanément présents dans la rhizosphère. En revanche, compte-tenu du fait que les *Pseudomonas* produisent des métabolites/toxines pouvant avoir des effets sur les organismes du sol (EFSA, 2013¹⁵), il conviendra de fournir des essais de toxicité chronique sur les collemboles (*Folsomia candida*) et les nématodes (*Caenorhabditis elegans*).

CONCLUSIONS RELATIVES A L'EFFICACITE DE LA MATIERE FERTILISANTE

Caractéristiques biologiques

Effets revendiqués

Les effets revendiqués par le pétitionnaire concernent l'amélioration de la biomasse végétale, l'amélioration de la composition minérale du végétal et l'amélioration du rendement.

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

Les revendications de la matière fertilisante sont basées sur la présence de *Pseudomonas putida* souche I-4613.

Le mode d'action et les effets des *Pseudomonas putida* sont illustrés dans diverses publications scientifiques soumises dans le cadre de ce dossier. Les *Pseudomonas putida* appartiennent au groupe des bactéries de la rhizosphère qui solubilisent le phosphore, chélatent le fer, et sont donc bénéfiques à la croissance de la plante (PGPR pour Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Une action sur l'ACC déaminase (enzyme intervenant dans la voie de production de l'éthylène) et sur les hormones auxiniques (acide indole acétique) est également mise en évidence.

Essais d'efficacité

Essais en conditions contrôlées

Des essais conduits en serre ont permis de tester l'impact de la matière fertilisante I-4613 sur la production de biomasse végétale aérienne et racinaire du blé (1 essai en alvéole), de l'orge (2 essais en alvéole) et du maïs (1 essai en pot et 1 essai en alvéole). Deux types d'application, l'une à la dose de 1×10^{11} ufc.ha⁻¹ pour l'essai en pot et l'autre à la dose de 1×10^7 ufc.mL de sol⁻¹ pour les essais en alvéole, ont été réalisés avant le semis. Pour ce qui concerne les essais en alvéole, l'inoculation bactérienne consiste à répartir la suspension bactérienne à la surface du sol de manière à apporter différentes concentrations de la souche I-4613 (1×10^3 à 1×10^7 ufc par mL de sol ; ces doses sont difficilement extrapolables à des doses d'utilisation en plein champs).

Une augmentation de la biomasse aérienne est observée dans les 5 essais, alors qu'une augmentation de la biomasse racinaire est observée seulement dans 1 essai sur 5 (dans les essais en alvéoles, soit pour une l'application de la bactérie à 1×10^7 ufc par mL de sol, dose supérieure à la dose d'apport recommandée¹⁶).

Essais en conditions d'emploi préconisées

Le pétitionnaire présente 7 essais mis en place en France en 2011 à 2014 sur blé (2 essais), orge (2 essais) et maïs (3 essais). Les résultats de ces essais sont interprétés en comparant la modalité traitée avec la matière fertilisante I-4613 à la modalité témoin. Les résultats présentés

¹⁵ Mudgal S, De Toni A, Tostivint C, Hokkanen H, Chandler D; Scientific support, literature review and data collection and analysis for risk assessment on microbial organisms used as active substance in plant protection products –Lot 1 Environmental Risk characterization. EFSA supporting publications 2013: EN-518.

¹⁶ Soit 2.10^{16} ufc.ha-1 sur la base d'une quantité de sol pour 1 ha de 3000 tonnes et une densité moyenne de 1,5 g/cm³.

ci-dessous ne sont pas statistiquement significatifs au seuil de 5%, mais uniquement à 10 ou 15%.

Blé

L'application de la matière fertilisante I-4613 aux doses de 1×10^{11} et 1×10^{12} ufc.ha⁻¹ entraîne une augmentation du rendement de 5 à 6 %. En revanche, aucun effet sur la biomasse végétale n'est observé.

Orge

L'application de la matière fertilisante I-4613 à la dose de 1×10^{11} ufc.ha⁻¹ entraîne une augmentation du rendement de 12 %. Par ailleurs, des teneurs plus élevées en potassium, magnésium, phosphore et manganèse ainsi qu'un indice chlorophyllien plus élevé, sont observées dans la modalité traitée avec la matière fertilisante I-4613. En revanche, aucun effet sur la biomasse végétale n'est observé.

Maïs

Deux essais montrent que l'application de la matière fertilisante I-4613 aux doses de 1×10^{11} et 1×10^{12} ufc.ha⁻¹ entraîne une augmentation du rendement de 6 à 11 %. Une amélioration de la biomasse végétale racinaire est également observée dans un essai.

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi indiqué est suffisant pour permettre une bonne utilisation de la matière fertilisante I-4613.

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

Les données d'efficacité disponibles permettent de soutenir un effet de la matière fertilisante I-4613 sur la biomasse végétale ainsi que sur le rendement du maïs et des céréales à paille. Des essais d'efficacité complémentaires sont néanmoins nécessaires, compte tenu, notamment, des seuils de significativité utilisés.

En revanche, la démonstration relative à l'amélioration de la composition minérale végétale n'est pas suffisamment étayée et cette revendication ne peut pas être retenue.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation bactérienne » - « Inoculum solide (poudre) de *Pseudomonas putida* souche I-4613 ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique, notamment sur la vigueur des plantes ou la stimulation de défense naturelle, 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 de la matière fertilisante I-4613 sont établies de manière satisfaisante.
Au regard des données de l'étude de stabilité, la durée de stockage ne devra pas excéder 12 mois dans son emballage commercial à température ambiante (entre 4 et 20 °C).
- B.** Dans le cadre des usages demandés, l'innocuité de la matière fertilisante I-4613 est considérée comme conforme aux dispositions réglementaires pour les contaminants chimiques et biologiques considérés comme pertinents dans le cadre de cette demande et pour lesquels il existe une valeur de référence.

Des analyses complémentaires sur les critères microbiologiques sont toutefois requises dans le cadre du suivi semestriel des lots de production.

- C. L'efficacité de la matière fertilisante I-4613 relative à l'amélioration de la biomasse végétale et du rendement est jugée acceptable pour l'ensemble des cultures revendiquées. Des éléments complémentaires d'appréciation de cette efficacité en conditions réelles d'utilisation et aux doses d'application retenues sont toutefois requis.

En revanche, la démonstration relative à l'amélioration de la composition minérale végétale n'est pas suffisamment étayée et cette revendication ne peut pas être retenue.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation bactérienne » - « Inoculum solide (poudre) de *Pseudomonas putida* souche I-4613 ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique, notamment sur la vigueur des plantes ou la stimulation de défense naturelle, 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-dessous.

I. Résultats de l'évaluation pour les usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante I-4613

Cultures	Doses d'apport (en kg par hectare)	Nombre de germes par hectare	Nombre d'apport par an	Epoque d'apport	Conclusion (commentaires)
Maïs	0,5 à 1,5	5.10^{10} à $1,5.10^{11}$	1	Au semis	Conforme
Cultures céréalières (blé, orge, avoine)					

Aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique, notamment sur la vigueur des plantes ou la stimulation de défense naturelle, ne devrait être faite sur les supports d'information et de communication.

II. Résultats de l'évaluation pour les éléments de marquage obligatoire pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante I-4613

Paramètre déclarable	Teneur minimale garantie
<i>Pseudomonas putida</i> souche I-4613	1.10^8 ufc.g ⁻¹

III. Classification de la matière fertilisante au sens du règlement (CE) n° 1272/2008

Sans classement

IV. Conditions d'emploi

La matière fertilisante I-4613 ne doit pas être utilisée par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.

Contient *Pseudomonas putida*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation.

Port d'un masque anti-aérosol (de type EN149 FFP3 ou équivalent), de gants et vêtements de protection appropriés pendant toutes les phases du traitement.

V. Données post-autorisation

Les compléments d'information et suivi de production suivants devront être apportés au plus tard 9 mois¹⁷ 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, des analyses portant au moins sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les éléments figurant sur l'étiquetage (dénombrement de <i>Pseudomonas putida</i> souche I-4613) ; - 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>. <p>Les analyses doivent avoir été effectuées par un laboratoire accrédité par le COFRAC sur le programme 108 ou par un organisme équivalent (norme NF EN ISO 17025). Les méthodes d'analyse doivent être en priorité celles du programme 108 du COFRAC. L'emploi de toute autre méthode doit être justifié et il convient d'utiliser en priorité les méthodes normalisées ou standardisées. 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>
Toxicologie	<p><u>Dans un délai de 2 ans</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournir un antibiogramme réalisé sur <i>Pseudomonas putida</i> souche I-4613. - Fournir une synthèse bibliographique actualisée sur l'innocuité du microorganisme faisant l'objet du présent dossier (à l'échelle de la souche, à défaut à l'échelle de l'espèce). Les termes utilisés pour la recherche bibliographique devront être précisés.
Environnement /écotoxicologie	<p><u>Dans un délai de 2 ans</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournir sur la base d'une recherche bibliographie réalisée selon les recommandations du document guide de l'EFSA (2011¹⁸) toute information permettant d'estimer le bruit de fond naturel de <i>Pseudomonas putida</i> dans les sols et les systèmes aquatiques afin de comparer cette valeur à la concentration attendue dans le sol suite à l'application de la matière fertilisante I-4613. - Fournir des informations sur la persistance/multiplication de <i>Pseudomonas putida</i> dans les sols.

¹⁷ Conformément au code rural et de la pêche maritime.

¹⁸ European Food Safety Authority; Submission of scientific peer-reviewed open literature for the approval of pesticide active substances under Regulation (EC) No 1107/2009 (OJ L 309, 24.11.2009, p. 1-50). EFSA Journal 2011;9(2):2092. [49 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2092.

Type	Compléments et suivis post-autorisation requis
	<ul style="list-style-type: none"> - Fournir toute information permettant de montrer que <i>Pseudomonas putida</i> n'interférera pas avec les méthodes d'analyse de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les eaux de distribution. - Fournir un essai de toxicité chronique sur <i>Folsomia candida</i> (e.g. OCDE 232). - Fournir un essai de toxicité chronique sur les nématodes du sol (e.g NF ISO 10872). <p>Les conditions mises en œuvre pour la réalisation de ces essais de toxicité chronique devront permettre d'évaluer l'impact de la préparation I-4613, dans les conditions et doses d'emploi retenues.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dans le cas où un impact sur les macro-organismes du sol ne pourrait être exclu au regard des résultats des tests de toxicité chronique, il conviendra de fournir un suivi, avant et après application de la préparation I-4613, des communautés de macro-organismes, parmi lesquels les nématodes.
Efficacité	<p><u>Dans un délai de 2 ans</u></p> <p>Fournir des essais d'efficacité dans les conditions et doses d'emploi retenues.</p> <p>Les rapports d'étude complets accompagnés des données brutes et d'une analyse statistique devront être communiqués.</p>

Annexe 1

Caractéristiques revendiquées par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante I-4613

Caractéristiques	Teneur garantie revendiquée
<i>Pseudomonas putida</i> (souche I-4613)	1.10^8 ufc.g ⁻¹

Usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante I-4613

Cultures	Doses d'apport (en kg par hectare)	Nombre de germes par hectare	Nombre d'apport par an	Epoque d'apport
Maïs	0,5 à 1,5	5.10^{10} à $1,5.10^{11}$	1	Au semis
Cultures céréalières (blé, orge, avoine)				