

Maisons-Alfort, le 1^{er} décembre 2015

Conclusions de l'évaluation

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 de la société PREMIER TECH BIOTECHNOLOGIES

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 PREMIER TECH-GHA180 de la société PREMIER TECH BIOTECHNOLOGIES.

La matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 est obtenue à partir d'inoculum actifs de *Bacillus pumilus* souche GHA180. Cette préparation bactérienne est destinée à augmenter la masse végétale et la précocité des plantes.

La matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 se présente sous forme d'une suspension à diluer avant utilisation et est proposée pour une utilisation en trempage des racines ou traitement du sol (pulvérisation directe ou via le système d'irrigation) ainsi qu'en incorporation dans la tourbe ou les supports de culture.

Les caractéristiques garanties ainsi que les usages revendiqués par le pétitionnaire pour la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 sont présentés en annexe 1.

L'évaluation de la présente demande est fondée sur l'examen par la Direction d'évaluation des produits règlementés (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 5 novembre 2015, 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 PREMIER TECH-GHA180 telles que décrites sur le formulaire Cerfa 11385 et la fiche d'information sont conformes aux dispositions réglementaires.

La matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 est obtenue à partir d'une culture bactérienne de *Bacillus pumilus*, souche GHA180, conservée dans un milieu de culture approprié. La souche GHA180 est une souche naturelle isolée à partir de la rhizosphère des pommiers dans l'Etat de Coahuila au Mexique. Elle est déposée et conservée en banque de collection auprès de l'autorité de dépôt internationale du Canada sous le numéro d'accèsion 260707-01 (Laboratoire national de microbiologie, Agence de santé publique de Canada).

Chaque lot de commercialisation de la préparation bactérienne PREMIER TECH-GHA180 correspond à des contenants de 0,95 L ; 1,89 L ; 3,79 L ; 4,73 L ; 9,46 L et 18,93 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.

Constance de composition

La constance de composition de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 (relative aux éléments de marquage obligatoire) est convenablement établie pour l'invariance.

Compte tenu de la nature de la matière fertilisante (culture bactérienne en suspension), l'étude de l'homogénéité n'est pas considérée comme nécessaire.

Les données de l'étude de stabilité montrent que la matière fertilisante est stable dans son emballage d'origine sur une durée de 24 mois à température ambiante, à l'abri du soleil et des températures excessives (< 0°C et > 50°C).

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

Les méthodes d'échantillonnage (constitution des échantillons et mode de prélèvement) en vue des analyses et essais réalisés ne sont pas décrites. Cette absence de description est néanmoins considérée comme non préjudiciable dans le cas de la préparation bactérienne PREMIER TECH-GHA180.

L'analyse de caractérisation physico-chimique a été effectuée par un laboratoire disposant d'une accréditation ISO-CEI 17025 du Centre d'Expertise en Analyses Environnementale du Québec (CEAEQ) pour les analyses agricoles, de l'eau potable et des eaux usées et est considérée comme acceptable.

La souche GHA180 présente dans la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 a été identifiée comme un *Bacillus pumilus* au regard des caractéristiques morphologiques, physiologiques et chimiotaxonomiques. Cette identification a été confirmée par des analyses

phylogénétiques basées sur le séquençage des gènes 16S de l'ADN³ ribosomique et de la flagelline. Cependant, les méthodes d'analyse proposées, ne permettent pas de discriminer la souche GHA180 des autres souches de *Bacillus pumilus*. En conséquence, il conviendra de fournir en post-autorisation une méthode génétique permettant une identification de *Bacillus pumilus* au niveau de la souche dans la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 et de la discriminer des autres souches de *Bacillus pumilus*.

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

Bacillus pumilus n'est pas inscrite 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. *Bacillus pumilus* bénéficie du statut de présomption d'innocuité reconnue QPS (Qualified Presumption of Safety), tel qu'établi par le comité scientifique de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) sous réserve d'absence d'activité toxigène et d'absence de gènes de résistance antimicrobienne acquise contre les antibiotiques cliniques pertinents.

Aucune donnée souche-spécifique n'a été communiquée au regard des potentiels métabolites pertinents et/ou toxines pouvant être produits par le micro-organisme. Toutefois, aucune toxicité significative ni aucun signe de pathogénicité n'ont été observés lors de l'administration orale de *Bacillus pumilus* souche GHA180 à des rats. De plus, une étude de la toxicité et de la pathogénicité aiguë par voie intraveineuse réalisée avec la souche GHA180 ne montre pas de toxicité, d'infectiosité ou de pathogénicité du micro-organisme. Malgré une clairance incomplète 21 jours après administration, un schéma d'élimination a pu être établi.

Les autres matières premières entrant dans la composition de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 ne présentent pas de danger pour la santé humaine aux concentrations auxquelles elles se trouvent dans cette matière fertilisante.

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité⁴ pour l'homologation des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi préconisées.

Les teneurs en composés traces organiques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et 7 PCBs⁵) 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 5 échantillons issus de 5 lots différents. Seuls les levures et moisissures, les salmonelles, les *E. Coli*, et les *Staphylococcus aureus* (micro-organismes prévus par le guide pour l'homologation pour ce type de produit) ont été recherchés. Les *Pseudomonas aeruginosa* ont également été analysés. Les résultats de ces analyses, montrent, d'une part que les valeurs de référence microbiologiques⁴ sont respectées pour les micro-organismes pathogènes analysés prévus par le guide pour l'homologation et, d'autre part, l'absence de *Pseudomonas aeruginosa*.

³ ADN : Acide désoxyribonucléique.

⁴ 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'.

⁵ PCB : polychlorobiphényle.

Par ailleurs, les études de toxicité aiguë réalisées avec la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 : DL₅₀⁶ par voie orale chez le rat supérieure à 5000 mg.kg⁻¹ p.c.; CL₅₀⁷ par inhalation chez le rat supérieure à 2,18 mg/L/4h (3x10⁷ ufc⁸.mL⁻¹ aucun effet irritant cutané ou oculaire chez le lapin.

La classification toxicologique pour la matière fertilisante, déterminée au regard des résultats expérimentaux obtenus sur cette préparation, de la classification des matières premières ainsi que de leur teneur dans le produit fini, est, au sens du Règlement (CE) n° 1272/2008 : **non classé**.

Néanmoins, s'agissant d'une matière fertilisante à base de micro-organismes, la phrase de précaution « Contient *Bacillus pumilus*. Les microorganismes 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 *Bacillus pumilus* bénéficie du statut de présomption d'innocuité reconnue (QPS) (EFSA, 2013). De plus, les résultats des études sur la toxicité de la souche GHA180 n'ont révélé aucune infectivité ni pouvoir pathogène et/ou toxigène liés cette souche. Par conséquent, le risque pour le consommateur, au regard de la présence de *Bacillus pumilus* GHA180 dans la préparation microbienne, est considéré comme négligeable.

Les analyses microbiologiques disponibles n'ont fourni aucune donnée sur les niveaux de microorganismes totaux, d'entérocoques, de *Clostridium perfringens*, de *Listeria monocytogenes*, nématodes et d'*Apsergillus*. Néanmoins, l'absence des autres pathogènes recherchés (*E. Coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*) est en faveur d'une absence de contamination de la matière fertilisante dans des proportions susceptibles d'entraîner un risque pour le consommateur. Les usages revendiqués sont donc considérés acceptables.

Par ailleurs, il conviendra de fournir en post-autorisation l'étude citée dans le dossier démontrant l'absence de transfert de GHA180 vers le feuillage et les parties consommables de la tomate.

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

La classification de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 vis-à-vis de l'environnement, 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 : non classé.

En ce qui concerne les effets sur les organismes aquatiques, compte tenu des conditions d'emploi proposées pour l'application de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180, l'exposition du milieu aquatique est considérée négligeable.

Des données de la littérature sur le devenir dans l'environnement du micro-organisme *Bacillus pumilus* ont été communiquées. Elles permettent de conclure que le micro-organisme *Bacillus pumilus* est naturellement présent dans les sols à des teneurs pouvant atteindre 1x10¹⁰ ufc.kg⁻¹ de sol et que les cellules végétatives et les spores des bacilles sont persistantes dans le sol. Les résultats d'une étude proposée par le pétitionnaire montrent également que *Bacillus pumilus* est persistant dans les substrats de culture.

Au regard des informations soumises, *B. pumilus* n'a pas d'effets néfastes sur les champignons mycorrhiziens. Par conséquent, aucun test de toxicité sur *Glomus mosae* n'est nécessaire. En revanche, des effets sur les nématodes ne peuvent être exclus. Par ailleurs, quelques cas de phytopathogénécité causés par *B. pumilus* sont reportés dans la littérature.

⁶ DL₅₀ : la dose létale 50 est une valeur statistique de la dose d'une substance/préparation dont l'administration unique par voie orale provoque la mort de 50 % des animaux traités.

⁷ CL₅₀ : concentration entraînant 50 % de mortalité.

⁸ Unité Formant Colonie.

Compte-tenu de la persistance attendue des spores de *B. pumilis* souche GHA180, des effets non-intentionnels sur les arthropodes/invertébrés du sol et les plantes, suite au retour au sol des substrats de culture contenant la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180, ne peuvent être exclus. Toutefois, la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 est apportée dans le substrat de culture pour la production de plants en pépinières confinées et non en apport par épandage en plein champs. Ainsi un apport significatif en *B. pumilis* dans le sol est peu probable compte tenu de la dilution attendue dans le sol au moment de la transplantation des cultures traitées. Néanmoins, une estimation de la concentration dans le sol attendue en *B. pumilis* au moment de la transplantation pour les différentes cultures revendiquées devra être soumise. Cette concentration devra être exprimée en ufc.kg^{-1} de sol et être comparée au fond géochimique estimé à $1 \times 10^{10} \text{ ufc.kg}^{-1}$ de sol. En cas de dépassement du fond géochimique, des informations additionnelles sur l'impact de ces micro-organismes sur la communauté microbienne des sols ainsi que sur les macroorganismes du sol devront être communiquées.

CONCLUSIONS RELATIVES A L'EFFICACITE DE LA MATIERE FERTILISANTE

Caractéristiques biologiques

Effet revendiqué

L'effet revendiqué par le pétitionnaire concerne l'augmentation de la masse végétale et de la précocité des plantes.

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

La revendication de la matière fertilisante est basée sur la présence de bactéries *Bacillus pumilis* souche GHA180.

Le mode d'action des *B. pumilis*, ainsi que leurs effets, sont illustrés dans la littérature scientifique. Cinq publications scientifiques ont été soumises dans le cadre de ce dossier :

- 3 publications indiquent la capacité des espèces du genre *Bacillus* à produire des hormones (auxine, cytokinine, gibbérelline) ou à favoriser l'assimilation d'éléments nutritifs ;
- 2 publications relatent l'effet de *Bacillus pumilus* sur l'augmentation de la masse sèche du poids chiche et le développement de plants de concombre.

Essais d'efficacité

Essais en conditions d'emploi préconisées

Le pétitionnaire présente 20 essais conduits au Canada entre 2006 et 2008 sur 3 espèces légumières [laitue (4 essais), poivron (4 essais), concombre (2 essais)] et 3 espèces ornementales [pensée (4 essais), sauge (4 essais), vinca (2 essais)]. Tous les essais en conditions contrôlées (serres) comportent un substrat de culture à base de tourbe, inoculé avec PREMIER TECH-GHA180 à raison de 50 mg.L^{-1} de substrat, ce qui correspond au minimum à 10^7 ufc.L^{-1} . Dans certaines modalités, le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture. Les paramètres étudiés pour évaluer l'intérêt agronomique de l'inoculum sont le taux de germination ainsi que la hauteur et la masse sèche de la partie aérienne.

Laitue (4 essais)

Lors des 5 premières semaines de culture, l'incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 permet d'augmenter significativement la hauteur (dans 2 des 3 essais où la notation du témoin a été fournie) et la masse sèche des plantes (dans les 4 essais) de laitue par rapport à la modalité témoin. Toutefois, lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de PREMIER TECH-GHA180 n'est plus mesurable sur la hauteur (2 essais sur 3) et la masse sèche (2 essais sur 3) des plantes.

Par ailleurs, la matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des graines de laitue.

Poivron (4 essais)

Lors des 7 à 9 premières semaines de culture, l'incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 permet d'augmenter significativement la hauteur et la masse sèche des plantes de poivron par rapport à la modalité témoin. Toutefois, lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 n'est plus mesurable.

Par ailleurs, la matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des graines de poivron.

Concombre (2 essais)

Lors des 6 premières semaines de culture, l'incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 permet d'augmenter significativement la hauteur et la masse sèche des plantes de concombre par rapport à la modalité témoin. Toutefois, dans 1 des 2 essais, lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 n'est plus mesurable.

Par ailleurs, la matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des graines de concombre.

Pensée (4 essais)

Lors des 6, 7 ou 9 premières semaines de culture, l'incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 permet d'augmenter significativement la hauteur (dans 1 des 3 essais où la notation du témoin a été fournie) et la masse sèche des plantes de pensée par rapport à la modalité témoin. Toutefois, lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 n'est plus mesurable sur la hauteur (4 essais sur 4) et la masse sèche (3 essais sur 4) des plantes.

Par ailleurs, la matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des graines de pensée.

Sauge (4 essais)

Lors des 6 premières semaines de culture, l'incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 permet d'augmenter significativement la hauteur (dans 2 des 3 essais où la notation du témoin a été fournie) et la masse sèche des plantes de sauge par rapport à la modalité témoin. Toutefois, dans 1 des 2 essais, lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 n'est plus mesurable.

Par ailleurs, la matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des graines de sauge.

Vinca (2 essais)

Lors des 9 premières semaines de culture, l'incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 permet d'augmenter significativement la hauteur et la masse sèche des plantes de vinca par rapport à la modalité témoin. Toutefois, lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 n'est plus mesurable sur la hauteur (1 essai sur 2) et la masse sèche (1 essai sur 2) des plantes.

Par ailleurs, la matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des graines de vinca.

En conclusions de l'ensemble de ces essais, l'effet observé est principalement une augmentation de la masse sèche de la partie aérienne des plantes. Dans certains essais, une augmentation de la hauteur des plantes est également mesurée. Ces effets sont obtenus lorsque la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 est mélangée à la dose 50 mg.L⁻¹ de substrat (10⁷ ucf de *Bacillus pumilus* par litre de substrat). Lorsque le champignon endomycorhizien *Glomus*

intraradices est également incorporé dans le substrat de culture, l'effet de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 n'est, dans certains cas, plus mesurable sur la hauteur et la masse sèche des plantes.

Cette matière fertilisante est sans effet significatif sur la germination des espèces légumières et ornementales testées.

Aucun essai n'a été réalisé sur les cultures de petits fruits (mûre, framboise et fraise), de choux (brocoli, chou de Bruxelles, chou, chou-fleur, etc.) et de légumes bulbes (incluant oignons, poireaux et échalotes). Cependant, compte tenu de la nature de la matière fertilisante et des revendications, l'effet revendiqué d'augmentation de la matière végétale est considéré comme soutenu pour l'ensemble des cultures revendiquées.

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi préconisé (incorporation de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 dans la tourbe ou dans des supports de culture avant la mise en culture ou par trempage de la zone racinaire ou traitement du sol (pulvérisation directe ou via le système d'irrigation) pour une utilisation dès les premiers stades de croissance des plantes en serres et pépinières confinées) est suffisant pour permettre une bonne utilisation de la matière fertilisante.

L'ensemble des essais présentés ayant été réalisés pour une seule application annuelle, il conviendra de limiter le nombre d'application de la préparation à un seul apport par an et par culture.

Selon les recommandations du pétitionnaire, la préparation doit être diluée avant application et utilisée dans les 24 heures.

Conclusions sur la revendication et la dénomination de classe et de type

Seule la revendication relative à l'augmentation de la masse végétale peut être considérée comme soutenue pour l'ensemble des cultures revendiquées. La revendication relative à la précocité des plantes n'est pas démontrée et ne peut donc pas être retenue.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation bactérienne en suspension » - « Inoculum de *Bacillus pumilus* souche GHA180 ».

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'Evaluation des Produits Réglementés estime que :

- A. Afin de permettre une caractérisation plus fine de la matière fertilisante PREMIER TECH GHA180, une identification de *Bacillus pumilus* au niveau de la souche (GHA180) et sa discrimination par rapport aux autres souches de *Bacillus pumilus* devra être soumise en post-autorisation.

La constance de composition de la matière fertilisante PREMIER TECH GHA180 est établie de manière satisfaisante. Au regard des données de l'étude de stabilité, la durée de stockage ne devra pas excéder 24 mois dans son emballage d'origine à température ambiante, à l'abri du soleil et des températures excessives (< 0°C et > 50°C).

- B. Dans le cadre des usages demandés, l'innocuité de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 est considérée comme conforme aux dispositions réglementaires pour les contaminants chimiques et biologiques considérés comme pertinents dans le cadre de cette demande pour lesquels il existe une valeur de référence.

Il conviendra toutefois de fournir en post-autorisation des analyses microbiologiques incluant l'ensemble des microorganismes requis dans le guide d'homologation et une étude démontrant l'absence de transfert de GHA 180 vers le feuillage et les parties consommables de la tomate.

- C. Les essais d'efficacité en conditions contrôlés présentés montrent que seul l'effet relatif à l'augmentation de la masse végétale peut être considéré comme soutenu pour l'ensemble des cultures revendiquées.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation bactérienne en suspension » - « Inoculum de *Bacillus pumilus* souche GHA180 ».

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 PREMIER TECH-GHA180

Cultures (sous serre ou pépinières confinées uniquement)	Dose par apport (en g.ha ⁻¹)	Nombre maximum de germes par ha	Nombre maximal d'apport par an	Époques d'apport	Conclusion (commentaires)
Légumes à fruit : Tomate aubergine, cerise de terre et poivrons	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou à la transplantation et répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Légumes à fruit : Tomate aubergine, cerise de terre et poivrons	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au semis ou à la transplantation (traitement du sol uniquement).	Conforme
Légume-feuille : Laitue, roquette, épinard, cresson, etc.	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou à la transplantation et répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Légume-feuille : Laitue, roquette, épinard, cresson, etc.	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au semis ou à la transplantation (traitement du sol uniquement).	Conforme
Cucurbitacées : Concombre, cantaloup, melon, courge, melon d'eau et citrouille	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation et répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Cucurbitacées : Concombre, cantaloup, melon, courge, melon d'eau et citrouille	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au semis ou immédiatement après la transplantation (traitement du sol uniquement).	Conforme
Les choux : Brocoli, chou de Bruxelles, chou, chou- fleur, etc.	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Faire la première application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Les choux : Brocoli, chou de Bruxelles, chou, chou- fleur, etc.	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au semis ou immédiatement après la transplantation (traitement du sol uniquement).	Conforme
Légumes bulbes : incluant Oignon, poireaux et échalotes	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Faire la première application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)

Cultures (sous serre ou pépinières confinées uniquement)	Dose par apport (en g.ha ⁻¹)	Nombre maximum de germes par ha	Nombre maximal d'apport par an	Époques d'apport	Conclusion (commentaires)
Légumes bulbes : incluant Oignon, poireaux et échalotes	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au semis ou immédiatement après la transplantation (traitement du sol uniquement).	Conforme
Petits fruits : Mûre framboise et fraise	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au début de la saison. Répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Petits fruits : Mûre framboise et fraise	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au début de la saison (traitement du sol uniquement).	Conforme
Légumineuses : Haricots, gourgane, féverole, pois chiche, etc.	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Faire la première application à la plantation (ou immédiatement après la plantation, mais avant l'émergence). Faire une deuxième application par pulvérisation localisée dans les 15 jours suivant l'émergence. Répéter l'application à mi-saison de croissance.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Légumineuses : Haricots, gourgane, féverole, pois chiche, etc.	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	A la plantation ou immédiatement après la plantation, mais avant l'émergence (traitement du sol uniquement).	Conforme
Fleurs et plantes ornementales	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications (traitement du sol uniquement) entre 15 et 20 jours d'intervalle.	Non conforme (Essai d'efficacité réalisé avec une seule application annuelle)
Fleurs et plantes ornementales	6000 à 12000	1.2 x10 ¹³	1	Au semis ou immédiatement après la transplantation (traitement du sol uniquement).	Conforme

Les lignes grisées dans le tableau signalent que l'évaluation conduit à identifier un risque ou bien que l'efficacité biologique n'a pas été démontrée. Les domaines de l'évaluation concernés sont signalés dans la colonne « conclusion ».

II. Résultats de l'évaluation pour les éléments de marquage obligatoire pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180

Paramètre déclarable	Teneur minimale garantie retenue
<i>Bacillus pumilus</i> , souche GHA180	10 ⁹ spores par g ou mL

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

Sans classement

IV. Conditions d'emploi

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

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

Afin de protéger les arthropodes/invertébrés du sol et les plantes utiliser la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 uniquement en serre fermée ou pépinières confinées.

Limiter le nombre d'application de la préparation à 1 apport par an et par culture.

La préparation doit être diluée avant application et utilisée dans les 24 heures.

V. Données post-autorisation

Les compléments d'information et suivi de production suivants devront être apportés au plus tard 9 mois⁹ 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>Bacillus pumilus</i> souche GHA180) ; - les microorganismes 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> (méthodes prévues par le guide pour l'homologation). <p>Dans un délai de 2 ans : Fournir une méthode génétique plus discriminante permettant une identification dans la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180 de <i>Bacillus pumilus</i> au niveau de la souche et la discriminer des autres souches de <i>Bacillus pumilus</i>.</p> <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>
Résidus	<p>Dans un délai de 2 ans</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournir l'étude indiquée dans le dossier, démontrant l'absence de transfert de GHA 180 vers le feuillage et les parties consommables de la tomate.

⁹ Conformément au code rural et de la pêche maritime.

Type	Compléments et suivis post-autorisation requis
Ecotoxicologie	<p><u>Dans un délai de 2 ans</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournir, compte tenu de la persistance dans les substrats de culture de <i>Bacillus pumilus</i>, une estimation de la concentration dans le sol attendue en <i>B. pumilis</i> au moment de la transplantation pour les différentes cultures revendiquées. Cette concentration devra être exprimée en ufc.kg⁻¹ de sol et être comparée au fond géochimique estimée à 1x10¹⁰ ufc.kg⁻¹ de sol. - En cas de dépassement du fond géochimique estimée à 1x10¹⁰ ufc.kg⁻¹ de sol, il conviendra de <ul style="list-style-type: none"> o fournir des données montrant que la souche GHA180 de <i>Bacillus pumilus</i> n'a pas d'effets néfastes sur les macro-organismes du sol. o fournir des informations sur l'impact lié à l'utilisation dans les conditions d'emploi de la souche GHA180 de <i>Bacillus pumilus</i> sur la communauté des microorganismes telluriques.
Efficacité	<p><u>Dans le cadre du renouvellement d'autorisation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Fournir des essais d'efficacité réalisés sur l'ensemble des cultures autorisées et dans les conditions d'emploi retenues.

Annexe 1

Caractéristiques revendiquées par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180

Caractéristiques	Teneurs garanties revendiquées
<i>Bacillus pumilus</i> , souche GHA180	10 ⁹ spores par g ou mL

Usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante PREMIER TECH-GHA180

Cultures	Dose par apport (en g.ha ⁻¹)		Nombre de germes par ha		Nombre maximal d'apport par an	Époques d'apport
	Min.	Max.	Min.	Max.		
Légumes à fruit : Tomate aubergine, cerise de terre et poivrons	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou à la transplantation et répéter les applications entre 15 et 20 jours d'intervalle.
Légume-feuille : Laitue, roquette, épinard, cresson, etc.	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou à la transplantation et répéter les applications entre 15 et 20 jours d'intervalle.
Cucurbitacées : Concombre, cantaloup, melon, courge, melon d'eau et citrouille	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications entre 15 et 20 jours d'intervalle.
Les choux : Brocoli, chou de Bruxelles, chou, chou-fleur, etc.	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Faire la première application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications entre 15 et 20 jours d'intervalle.
Légumes bulbes : incluant Oignon, poireaux et échalotes	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Faire la première application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications entre 15 et 20 jours d'intervalle.
Petits fruits : Mûre framboise et fraise	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au début de la saison. Répéter au besoin entre 15 et 20 jours d'intervalle.
Légumineuses : Haricots, gourgane, féverole, pois chiche, etc.	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Faire la première application à la plantation (ou immédiatement après la plantation, mais avant l'émergence). Faire une deuxième application par pulvérisation localisée dans les 15 jours suivant l'émergence. Répéter l'application à mi-saison de croissance.
Fleurs et plantes ornementales	6000	12000	6 x10 ¹²	1.2 x10 ¹³	3	Commencer l'application du produit au semis ou immédiatement après la transplantation. Répéter les applications entre 15 et 20 jours d'intervalle.