

Maisons-Alfort, le 15 septembre 2010

LE DIRECTEUR GENERAL

## AVIS

**de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,  
de l'environnement et du travail  
relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation  
SERENADE MAX, à base de *Bacillus subtilis*, souche QST 713,  
de la société BASF AGRO SAS**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (qui reprend, depuis le 1er juillet 2010, les missions de l'Afssa et de l'Afsset) a accusé réception d'une demande d'autorisation de mise sur le marché pour la préparation SERENADE MAX à base de *Bacillus subtilis*, souche QST 713, de la société BASF AGRO SAS, pour laquelle, conformément à l'article L.253-4 du code rural, l'avis de l'Anses relatif à l'évaluation des risques sanitaires et de l'efficacité de cette préparation est requis.

Le présent avis porte sur la préparation SERENADE MAX à base de *Bacillus subtilis*, souche QST 713, destinée au traitement fongicide de la vigne, des arbres fruitiers, des cassissiers, framboisiers et autres rubus, des fraisiers, des laitues, des tomates, des melons, des courgettes, des plantes aromatiques, de diverses cultures florales, des arbres et arbustes d'ornement, des gazons de graminées, du houblon et des champignons de couche.

Il est fondé sur l'examen du dossier déposé pour cette préparation, en conformité avec les exigences de la directive 91/414/CEE<sup>1</sup>.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Produits phytosanitaires : microorganismes", réuni le 23 mars et le 6 juin 2010, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet l'avis suivant.

### **CONSIDERANT L'IDENTITE DE LA PREPARATION**

La préparation SERENADE MAX est un fongicide se présentant sous la forme d'une poudre mouillable (WP) contenant 15,67 % (poids/poids) de spores *Bacillus subtilis*, souche QST 713, correspondant à  $5,13 \times 10^{13}$  UFC<sup>2</sup>/kg de produit, appliqué en pulvérisation après dispersion dans l'eau. Les usages demandés (cultures et doses d'emploi annuelles) sont mentionnés à l'annexe 1.

Le *Bacillus subtilis*, souche QST 713<sup>3</sup> est une substance active inscrite à l'annexe I de la directive 91/414/CEE. La préparation SERENADE MAX est assimilable à la préparation représentative du dossier européen, SERENADE WP, la nature des formulants de la préparation SERENADE MAX n'étant pas de nature à modifier les effets et le comportement du microorganisme.

### **CONSIDERANT LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET LES METHODES D'ANALYSES**

Les spécifications de la substance active *Bacillus subtilis* QST 713 dont l'origine est reconnue permettent de caractériser cette substance active et sont conformes aux exigences réglementaires.

<sup>1</sup> Directive 91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991, transposée en droit français par l'arrêté du 6 septembre 1994 portant application du décret 94/359 du 5 mai 1994 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques.

<sup>2</sup> UFC : Unité formant colonie.

<sup>3</sup> Directive 2007/6/CE de la Commission du 14 février 2007 modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil afin d'y inscrire les substances actives metrafenone, *Bacillus subtilis*, spinosad et thiamethoxam.

La préparation SERENADE MAX ne présente pas de propriétés explosive ou comburante. Elle n'est pas hautement inflammable ni auto-inflammable (température d'auto-inflammabilité de 395°C). Le pH d'une dilution aqueuse à la concentration de 1 % de la préparation est de 5,81. Les études de stabilité au stockage (8 semaines à 40 °C et 2 ans à température ambiante) permettent de montrer que la préparation SERENADE MAX est stable dans son emballage (en PolyÉthylène Haute Densité) dans ces conditions. Il conviendra de ne pas stocker la préparation à plus de 40 °C.

Les études montrent que la mousse formée lors de la dilution aux concentrations d'usage reste dans les limites acceptables. Les études fournies concernant la suspensibilité de la préparation montrent qu'il conviendra de recommander d'agiter énergiquement la préparation pendant l'application. La préparation est considérée comme mouillable. 90 % des particules de la préparation ont une taille inférieure à 230 µm et 10 % des particules de la préparation ont une taille inférieure à 13 µm.

Les caractéristiques techniques de la préparation permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans les conditions d'emploi préconisées (concentrations de 0,2 à 2 % m/v).

Les méthodes d'analyse de la substance active dans la préparation sont conformes aux exigences réglementaires. La préparation ne contenant pas d'impuretés déclarées pertinentes, aucune méthode n'est nécessaire pour la détermination des impuretés dans la préparation.

Aucune limite maximale de résidus (LMR) n'ayant été fixée dans les denrées végétales et dans les produits d'origine animale, aucune méthode n'est nécessaire pour la détermination des résidus de la substance active dans les denrées végétales et les produits d'origine animale. Par ailleurs, aucune définition de résidus n'étant proposée pour le sol, l'eau et l'air, des méthodes d'analyse pour la détermination des résidus dans le sol, l'eau (et l'air ne sont donc pas nécessaires. La substance active n'étant pas classée toxique (T) ou très toxique (T+), aucune méthode d'analyse n'est nécessaire dans les fluides biologiques.

#### **CONSIDERANT LES PROPRIETES TOXICOLOGIQUES**

*Bacillus subtilis* souche QST 713 est une bactérie catalase positive appartenant à la famille des *Bacillaceae* qui a été isolée pour la première fois en 1995 à partir d'un sol californien. Cette souche n'est pas génétiquement modifiée. Elle est parfaitement identifiée notamment par des méthodes morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires.

*Bacillus subtilis* souche QST 713 est considéré comme non pathogène. Des cas d'infections liés à *Bacillus subtilis* souche QST 713 ont été rapportés chez des patients immunodéprimés.

*Bacillus subtilis* souche QST 713 produit différentes exo-enzymes contribuant à la dégradation de la matière organique. L'enzyme extracellulaire subtilisine étant un composé protéique, des phénomènes de sensibilisation peuvent apparaître chez des individus qui y seraient exposés de façon répétée. Les analyses de lot réalisées sur la substance active et la préparation montrent une concentration en subtilisine inférieure à la limite de quantification, soit 1000 ng/mL pour la substance active et 500 ng/mL pour la préparation. Selon l'Environmental Protection Agency (US EPA), *Bacillus subtilis* souche QST 713 ne produit pas de toxines en quantité significative et l'espèce bactérienne aurait un faible pouvoir de virulence chez l'homme.

Les études toxicologiques réalisées sur la substance active montrent qu'une administration orale, intraveineuse ou cutanée chez le rat ne provoque pas d'effet toxique ou clinique. Des effets discrets et transitoires ont été observés dans les tests d'irritation cutanée et oculaire mais ceux-ci ne justifient pas de classification. Après instillation intratrachéale, la clairance des spores de *Bacillus subtilis* souche QST 713 est lente dans les ganglions lymphatiques et les poumons ainsi que dans le foie et la rate après administration intraveineuse. La clairance est complète au bout de 8 semaines après administration répétée pendant 28 jours chez le rat par inhalation.

Les études réalisées avec la préparation SERENADE MAX donnent les résultats suivants :

- $DL_{50}^4$  par voie orale chez le rat, supérieure à 2000 mg/kg pc ;

<sup>4</sup>  $DL_{50}$  : 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.

- DL<sub>50</sub> par voie cutanée chez le rat, supérieure à 2000 mg/kg pc ;
- CL<sub>50</sub><sup>5</sup> par inhalation chez le rat, supérieure à 2,16 mg/L ;
- Non irritant pour les yeux chez le lapin ;
- Non irritant pour la peau chez le lapin.

La classification de la préparation, déterminée au regard de ces résultats expérimentaux, de la classification de la substance active et des formulants ainsi que de leur teneur dans la préparation, figure à la fin de l'avis.

Tous les microorganismes sont considérés comme potentiellement sensibilisants. Lors de la réunion des experts européens du 26 juin 2009 (PRAPeR<sup>6</sup> M3), il a été décidé d'indiquer, sur l'étiquette de toutes les préparations à base de microorganismes, la mention suivante : "Contient du *Bacillus subtilis*. Peut provoquer des réactions de sensibilisation".

#### **CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES A L'EXPOSITION DE L'OPERATEUR, DES PERSONNES PRESENTES ET DES TRAVAILLEURS**

##### **Estimation de l'exposition des applicateurs**

Les doses revendiquées pour SERENADE MAX sont similaires à celles évaluées au niveau européen pour la préparation représentative. Toutefois, la préparation SERENADE MAX étant une poudre, une exposition aux spores est possible durant le mélange/chargement de la préparation. Compte tenu des propriétés potentiellement sensibilisantes de la substance active, le port de gants, vêtements de protection et d'un masque de protection respiratoire est nécessaire. Pendant l'application de la préparation, l'exposition aux spores de *Bacillus subtilis* est considérée comme négligeable.

##### **Estimation de l'exposition des travailleurs**

Une exposition des travailleurs pendant l'inspection ou la cueillette après application de la préparation SERENADE MAX est possible. Il est impératif d'attendre le séchage complet de la zone traitée avant d'y pénétrer à nouveau. Etant donné le potentiel sensibilisant de la préparation, il conviendrait de porter des gants et des vêtements de protection.

#### **CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR**

Les données résidus fournies dans le cadre de ce dossier sont identiques à celles soumises pour l'inscription de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 à l'annexe I de la directive 91/414/CEE.

##### **Définition du résidu**

Aucune définition du résidu n'a été jugée nécessaire pour l'inscription de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 à l'annexe I de la directive 91/414/CEE. De ce fait, les études d'essais résidus, d'alimentation animale, de rotations culturales et de transformations industrielles ne sont pas nécessaires. *Bacillus subtilis*, souche QST 713 ne sécrète pas de toxines.

##### **Délais d'emploi avant récolte (DAR)**

Conformément à l'arrêté du 12 septembre 2006, il n'est pas possible de fixer un DAR de 0 jour. Le DAR sera donc de 1 jour.

##### **Evaluation du risque pour le consommateur**

La fixation d'une dose journalière admissible<sup>7</sup> (DJA) et d'une dose de référence aiguë<sup>8</sup> (ARfD) pour *Bacillus subtilis*, souche QST 713 n'a été jugée nécessaire lors de l'évaluation européenne en raison de l'absence de toxicité de ce microorganisme.

<sup>5</sup> CL<sub>50</sub> : (concentration létale moyenne) est une valeur statistique de la concentration d'une substance dont l'exposition par inhalation pendant une période donnée provoque la mort de 50 % des animaux durant l'exposition ou au cours d'une période fixe faisant suite à cette exposition.

<sup>6</sup> PRAPeR : Pesticide risk assessment peer review.

<sup>7</sup> La dose journalière admissible (DJA) d'un produit chimique est une estimation de la quantité de substance active présente dans les aliments ou l'eau de boisson qui peut être ingérée tous les jours pendant la vie entière, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de substance chimique par kilogramme de poids corporel (OMS, 1997).

<sup>8</sup> La dose de référence aiguë (ARfD) d'un produit chimique est la quantité estimée d'une substance présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée sur une brève période, en général au cours d'un repas ou d'une journée, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de substance chimique par kilogramme de poids corporel (OMS, 1997).

Aucun risque inacceptable n'est attendu pour le consommateur suite à l'utilisation de la préparation SERENADE MAX sur vigne, cultures légumières, cultures fruitières, houblon et gazon de graminées en conformité avec les doses revendiquées à l'annexe 1.

Par ailleurs, les doses d'application envisagées pour le traitement du compost des champignons de couche ne différant pas significativement de celles évaluées au niveau européen pour d'autres usages, cet usage est par conséquent acceptable.

**CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES AU DEVENIR ET AU COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT ET LES DONNEES D'ECOTOXICITE**

Conformément aux exigences de la directive 91/414/CEE relatives au dossier annexe III, les données relatives au devenir et au comportement dans l'environnement concernent la substance active. Les données ci-dessous relatives au *Bacillus subtilis*, souche QST 713, ont été générées dans le cadre de son inscription à l'annexe I de la directive 91/414/CEE. SERENADE MAX est différente de la préparation représentative présentée pour l'inscription *Bacillus subtilis*, souche QST 713 à l'annexe I. Toutefois, la nature des formulants de la préparation SERENADE MAX n'étant pas de nature à modifier les effets et le comportement du microorganisme, l'évaluation des effets et des risques liés à l'utilisation de cette préparation a été réalisée en utilisant les données du rapport d'évaluation européen et pour les usages revendiqués.

L'évaluation des risques a été réalisée selon les principes uniformes pour l'évaluation et l'autorisation des produits phytopharmaceutiques contenant des microorganismes (directive 2005/25/CE du Conseil du 14 mai 2005). Elle s'appuie sur des données de la littérature scientifique et des études réglementaires spécifiques.

**Devenir et comportement dans le sol et effets sur les organismes du sol**

*Bacillus subtilis* est une bactérie ubiquitaire que l'on trouve habituellement dans le sol. La souche QST 713 a été isolée à partir d'un sol américain. La survie sous forme végétative est dépendante de l'apport en matière organique et les populations se stabilisent sous forme d'endospores au bout de quelques jours. L'apport supplémentaire de *Bacillus subtilis* souche QST 713 ne devrait pas perturber la flore microbienne des sols.

Les effets de la préparation représentative européenne chez le ver de terre ont été renseignés. L'étude a montré une faible toxicité aiguë mais des effets sublétaux ont été observés aux deux plus fortes concentrations. L'estimation de la dose annuelle maximale apportée par les applications de SERENADE MAX est inférieure à la dose sans effet toxique et sublétaux chez le ver de terre d'un facteur 37. Les risques pour les vers de terre sont donc considérés comme acceptables.

*Bacillus subtilis* étant une bactérie aérobie, elle se développera dans la couche superficielle du sol et sa migration vers les couches profondes devrait être limitée.

**Devenir dans l'eau et effets sur les organismes aquatiques**

Les endospores de *Bacillus subtilis* peuvent être détectées dans les eaux continentales et océaniques et dans les sédiments. Cependant, *Bacillus subtilis* ne prolifère pas dans cet environnement pauvre en carbone organique.

Les effets de la souche QST 713 apportée sur les organismes aquatiques ont été renseignés et les doses d'effets et sans effet ont été déterminées chez une espèce de poisson, deux espèces d'invertébrés et une espèce d'algue verte. Aucun signe d'infériorité ou de pathogénicité n'a été décelé. Les effets de la préparation SERENADE MAX n'ont pas été renseignés tout comme ceux de la préparation représentative européenne car il a été estimé que la nature et les propriétés des formulants n'étaient pas de nature à modifier les effets observés avec la substance active technique.

La concentration sans effet prévisible dans l'environnement (PNEC) de 0,082 mg/L pour les organismes aquatiques est basée sur la toxicité aiguë chez *Daphnia magna* ( $CE_{50}^9 = 8,2$  mg *Bacillus subtilis* QST 713 pur/L) affectée d'un facteur de sécurité de 100.

<sup>9</sup>  $CE_{50}$  : concentration entraînant 50 % d'effets.

Cette PNEC est comparée aux valeurs de PEC<sup>10</sup> calculées pour prendre en compte la dérive de pulvérisation. Cette comparaison conduit à recommander le respect d'une zone non traitée de 5 mètres en bordure des points d'eau pour les usages revendiqués autres que l'usage sur houblon.

La dose revendiquée pour les traitements sur le houblon est exprimée en concentration sans précision des volumes employés en fonction du stade de la culture. En considérant la gamme de volume déclarée dans un essai d'efficacité (1400 à 3000 L/ha) ainsi que la répétition probable des applications, la comparaison des PEC estimées avec la PNEC conduit à recommander le respect d'une zone non traitée de 20 mètres en bordure des points d'eau pour l'usage revendiqué sur houblon.

#### Devenir dans l'air

L'air est une voie de dissémination des endospores. En raison de l'absence de carbone organique et de matrice minérale, la multiplication de *Bacillus subtilis* dans le compartiment aérien peut être exclue. La survie des cellules végétatives dans l'air est limitée par des facteurs de stress tels que le dessèchement, les radiations UV et la température.

#### Effets sur les oiseaux et les mammifères

Les effets de *Bacillus subtilis* souche QST 713 ont été renseignés chez une espèce d'oiseau, le colin de Virginie, avec une étude de toxicité alimentaire. La toxicité de *Bacillus subtilis* souche QST 713 est faible et aucun signe d'infectiosité ou de pathogénicité n'a été décelé après 5 jours d'exposition et 25 jours d'observation à la dose de 380 mg *Bacillus subtilis* pur/kg p.c./j. Aucune toxicité aiguë de la préparation SERENADE MAX n'a été observée à 2000 mg/kg p.c. chez le rat.

Les risques liés à une exposition par la voie alimentaire ont été évalués pour les oiseaux herbivores et insectivores ainsi que pour les mammifères herbivores en utilisant les scénarios standard tels que définis dans le document guide européen Sanco/4145/2000.

La dose d'effet acceptable chez les oiseaux de 380 mg de *Bacillus subtilis* souche QST 713 pur/kg p.c./j est supérieure aux expositions théoriques estimées maximales d'un facteur 40 pour une application de SERENADE MAX. La dose sans effet aigu chez le rat est supérieure aux estimations expositions théoriques estimées maximales d'un facteur 8 à 40 pour une application de SERENADE MAX. La répétition des applications ne devrait pas entraîner une accumulation importante de *Bacillus subtilis* souche QST 713 sur le feuillage ou les insectes.

#### Effets sur les abeilles et les autres arthropodes non-cibles

*Bacillus* sp. est associé à la microflore des abeilles. Les effets de *Bacillus subtilis* souche QST 713 et de la préparation représentative européenne ont été renseignés chez les abeilles adultes, les larves et les colonies. Les risques liés à l'utilisation de SERENADE MAX sont faibles.

Les effets de la préparation représentative européenne sur 5 espèces d'arthropodes non-cibles ont été renseignés avec des études de laboratoire. Les effets sur les populations d'acariens prédateurs ont été évalués avec deux essais conduits en vignoble. Les risques liés à l'utilisation de la préparation SERENADE MAX pour les populations d'arthropodes non-cibles sont faibles.

#### CONSIDERANT LES DONNEES BIOLOGIQUES

*Bacillus subtilis* souche QST 713 est proposée pour une utilisation comme biofongicide agissant comme un antagoniste de nombreux champignons pathogènes des plantes. Il prévient la germination des spores fongiques sur les plantes par désorganisation de la croissance du tube germinatif et inhibition de la fixation des pathogènes à la surface des feuilles de la plante. De plus, il a été montré que *Bacillus subtilis* QST 713 peut induire une résistance systémique acquise dans les plantes, conduisant les plantes à devenir plus résistantes à toute une variété de pathogène.

#### Essais d'efficacité

##### Fruits à noyau

9 essais réalisés avec des préparations à base de *Bacillus subtilis*, souche QST 713, différentes de SERENADE MAX, ont été fournis. La dose de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée est la

<sup>10</sup> PEC : Concentration prévisible dans l'environnement (predicted environmental concentration).



même que celle revendiquée. L'efficacité de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 est limitée mais peut être intéressante dans les cas de faible infestation. Toutefois, il conviendra de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

### **Fruits à coque**

Les 2 essais fournis ont été réalisés avec des préparations à base de *Bacillus subtilis*, souche QST 713. La dose de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée dans ces essais est supérieure à la dose revendiquée pour la préparation SERENADE MAX. L'efficacité de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 est faible mais supérieure à celle de la préparation de référence. Toutefois, il conviendra de fournir des essais de valeur pratique permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation de SERENADE MAX dans un programme de protection des cultures.

### **Fruits à pépins**

5 essais réalisés avec la préparation SERENADE MAX et 6 essais réalisés avec d'autres préparations ont été fournis pour évaluer l'efficacité de cette préparation pour lutter contre le feu bactérien<sup>11</sup>. 2 essais réalisés avec SERENADE MAX et 4 essais réalisés avec d'autres préparations ont également été fournis pour évaluer l'efficacité de cette préparation pour lutter contre pour la tavelure.

L'efficacité de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 est hétérogène sur feuilles et fruits selon la pression pathogène mais peut être intéressante contre ces maladies. Il conviendra toutefois de fournir des essais de valeur pratique avec SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

### **Vigne**

Pour l'usage sur pourriture grise, 14 essais de valeur pratique comparant la préparation représentative du rapport d'évaluation européen du *Bacillus subtilis*, souche QST 713 avec la préparation SERENADE MAX ont été fournis. Aucune différence d'efficacité entre les deux préparations n'est notée.

En ce qui concerne l'usage sur pourriture acide, les deux essais valides réalisés montrent une faible efficacité de la préparation SERENADE MAX. Cet usage n'est pas enregistré et aucune préparation n'est actuellement autorisée en France. Les données sont donc insuffisantes pour conclure sur l'efficacité de la préparation SERENADE MAX.

Afin d'évaluer l'intérêt de la préparation pour limiter le développement du champignon producteur d'ochratoxines, 3 essais ont été fournis. Cependant, les données sont insuffisantes pour conclure sur l'efficacité de la préparation SERENADE MAX.

### **Baies rouges (cassissier et framboisier)**

Un essai sur oïdium réalisé avec la préparation SERENADE MAX a été fourni. La dose testée correspond à la dose revendiquée. L'efficacité est égale ou inférieure à la préparation de référence mais peut être intéressante contre cette maladie. Il conviendra toutefois de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

En ce qui concerne l'usage sur botrytis, 3 essais réalisés avec d'autres préparations que la préparation SERENADE MAX ont été soumis dans le dossier mais sont insuffisants pour juger l'efficacité de la préparation.

### **Cultures tropicales**

En ce qui concerne l'usage sur l'avocatier, aucune donnée n'a été fournie mais l'usage est comparable à celui sur la tavelure du pommier. Il conviendra donc de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures dans un contexte tropical français.

En ce qui concerne l'usage sur le bananier, 3 essais réalisés avec d'autres préparations que la préparation SERENADE MAX ont été soumis. Dans ces essais, l'efficacité de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 est comparable à celle de la préparation de référence. Il conviendra toutefois de

<sup>11</sup> En ce qui concerne le feu bactérien des pommiers, il convient de noter que seules les préparations à base de fosétyl-Al sont actuellement autorisées en France ainsi qu'une préparation à base de laminarine.

fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation.

Pour l'usage sur l'oïdium du manguier, 2 essais réalisés avec d'autres préparations ont été soumis. Il conviendra de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation.

### **Houblon**

5 essais réalisés avec d'autres préparations que la préparation SERENADE MAX ont été soumis. La dose de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée dans ces essais est supérieure à la dose revendiquée pour la préparation SERENADE MAX. L'efficacité obtenue est hétérogène (de nulle à modérée). Ces essais sont insuffisants pour conclure sur l'efficacité de la préparation SERENADE MAX.

### **Cultures légumières**

- **Laitue**

En ce qui concerne l'usage sur sclérotiniose, les 2 essais réalisés avec la préparation SERENADE MAX et les 5 essais réalisés avec d'autres préparations montrent une efficacité très hétérogène selon la pression pathogène qui peut cependant être intéressante contre cette maladie. Il conviendra de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

Pour la pourriture grise, les 3 essais soumis ont été réalisés avec d'autres préparations que SERENADE MAX, mais la dose *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée dans ces essais est la même que celle revendiquée pour SERENADE MAX. Ces essais montrent une efficacité hétérogène et sont insuffisants pour conclure sur l'intérêt agronomique de la préparation SERENADE MAX sur cet usage.

- **Fraisier**

En ce qui concerne l'usage sur la pourriture grise, 12 essais réalisés avec d'autres préparations que la préparation SERENADE MAX et un essai réalisé avec la préparation SERENADE MAX ont été soumis dans le dossier.

En ce qui concerne l'usage sur l'oïdium, un essai a été réalisé avec la préparation SERENADE MAX. L'efficacité obtenue est hétérogène (de nulle à modérée) et inférieure à l'efficacité de la préparation de référence CEB. Les données sont donc insuffisantes pour conclure sur l'efficacité de la préparation SERENADE MAX contre ces deux maladies.

- **Courgette**

1 essai réalisé avec une autre préparation que SERENADE MAX a été soumis. La dose de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée dans ces essais inclut la dose revendiquée pour la préparation SERENADE MAX. L'efficacité obtenue est moyenne mais peut être intéressante. De plus, la récolte de courgettes étant quotidienne, une préparation permettant un délai avant récolte de 1 jour seulement peut avoir un intérêt agronomique. Toutefois, il conviendra de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

- **Melon**

2 essais réalisés avec la préparation SERENADE MAX montrent une efficacité faible, inférieure à celle de la préparation de référence. Les données sont donc insuffisantes pour conclure sur l'efficacité de la préparation SERENADE MAX.

- **Tomate**

8 essais sur pourriture grise réalisés avec d'autres préparations que la préparation SERENADE MAX, 3 essais sur bactériose réalisés avec d'autres préparations que SERENADE MAX et un essai réalisé avec SERENADE MAX ont été soumis. Ces essais montrent une efficacité très hétérogène selon la pression pathogène qui peut cependant être intéressante contre ces maladies. Toutefois, il conviendra de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

**Plantes à parfum, aromatiques médicinales et condimentaires (PPAMC)**

5 essais réalisés avec d'autres préparations que la préparation SERENADE MAX, dans lesquels la dose de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée inclut la dose revendiquée pour la préparation SERENADE MAX, ont été soumis. 2 essais concernent l'oïdium, 2 essais la pourriture grise et 1 essai la rouille. Ils montrent une efficacité très hétérogène selon la pression pathogène. Contre l'oïdium, l'efficacité est moyenne mais peut cependant être intéressante. Contre les autres maladies, les données fournies sont insuffisantes pour conclure sur l'efficacité de la préparation. Il conviendra de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures contre l'oïdium.

**Champignons de couche**

2 essais comparant la préparation représentative du rapport d'évaluation européen du *Bacillus subtilis*, souche QST 713 avec la préparation SERENADE MAX ont été fournis. Aucune différence d'efficacité entre les deux préparations n'est notée.

**Diverses cultures florales**

De nombreux essais réalisés avec d'autres préparations que SERENADE MAX ont été soumis. Ils montrent une efficacité très hétérogène selon la pression pathogène qui peut cependant être intéressante pour lutter contre l'oïdium, la pourriture grise et la bactériose. Il conviendra cependant de fournir des essais de valeur pratique avec la préparation SERENADE MAX permettant de fixer les conditions optimales d'utilisation dans un programme de protection des cultures.

**Arbres et arbustes d'ornement**

Un seul essai valide réalisé avec une autre préparation que SERENADE MAX, dans lequel la dose de *Bacillus subtilis*, souche QST 713 testée est proche de la dose revendiquée pour la préparation SERENADE MAX, a été soumis. Cet essai est insuffisant pour conclure sur l'efficacité de cette préparation.

**Gazons de graminées**

2 essais réalisés avec d'autres préparations que SERENADE MAX et un essai réalisé avec la préparation SERENADE MAX ont été soumis dans le dossier, mais les données sont insuffisantes pour conclure sur l'efficacité.

**Essais de phytotoxicité**

De nombreuses observations sur les différentes cultures demandées ont été réalisées dans les essais efficacité. Aucun symptôme n'est noté. La préparation SERENADE MAX peut être considérée comme sélective des cultures visées.

En revanche, aucune donnée n'a été fournie sur framboisier et avocatier. Il conviendra de fournir ces données en post-autorisation.

**Effets sur le rendement, la qualité des plantes et produits transformés**

L'évaluation permet de conclure à l'absence d'effets négatifs de la préparation sur le rendement des récoltes et la qualité des produits transformés. Il conviendra d'indiquer le risque de marquage sur raisin de table.

**Effets secondaires non recherchés**

L'argumentaire fourni sur l'absence d'effets secondaires, fondé sur la présence de ce microorganisme à l'état naturel dans le sol, a été jugé recevable.

**Résistance**

Une étude a été soumise dans le dossier. Le risque de développement de populations résistantes à *Bacillus subtilis*, souche QST 713 est jugé comme faible du fait du mode d'action multisite de la substance active et de l'absence de cas de populations de pathogènes résistantes identifiées.



L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que :

- A.** Les caractéristiques physico-chimiques de la préparation SERENADE MAX ont été décrites. Elles permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans les conditions d'emploi préconisées. Au regard des données disponibles, il conviendra de ne pas stocker la préparation à plus de 40 °C et d'agiter énergiquement la préparation pendant l'application.

Les risques pour les applicateurs et les travailleurs, liés à l'utilisation de la préparation SERENADE MAX pour les usages revendiqués, sont considérés comme acceptables dans les conditions d'emploi précisées ci-dessous

Les risques aigu et chronique pour le consommateur liés à l'utilisation des préparations SERENADE MAX pour les usages revendiqués mentionnés à l'annexe 1, sont considérés comme acceptables.

Les risques pour l'environnement, liés à l'utilisation de la préparation SERENADE MAX pour les usages revendiqués, sont considérés comme acceptables.

Les risques pour les organismes terrestres et aquatiques sont acceptables pour tous les usages revendiqués pour la préparation SERENADE MAX.

- B.** Les données fournies ont permis de montrer une efficacité partielle de la préparation SERENADE MAX pour les arbres fruitiers, les baies rouges excepté pour l'usage sur botrytis, la vigne excepté pour les usages sur pourriture acide et champignons producteurs d'ochratoxines, le bananier, l'avocatier, le manguier, certaines cultures légumières (courgette, sclérotiniose de la laitue et tomate), les PPAMC, les cultures florales et les champignons de couche (cf annexe 2). Pour la plupart de ces usages, il conviendra de fournir dans un délai de 3 ans des essais de valeur pratique permettant de définir les conditions optimales d'utilisation de la préparation avec un niveau d'efficacité reproductible.

Pour tous les autres usages revendiqués, l'efficacité de la préparation SERENADE MAX n'ayant pas été suffisamment démontrée, son utilisation n'est pas acceptable

Le risque de phytotoxicité sur l'ensemble des cultures est jugé acceptable, excepté sur avocatier et framboisier, cultures pour lesquelles il conviendra de fournir en post-autorisation des essais de phytotoxicité.

Le risque de développement de résistance est jugé comme faible.

En conséquence, considérant l'ensemble des données disponibles, le Comité d'experts spécialisé "Produits phytosanitaires : microorganismes" émet un avis **favorable** pour l'autorisation de mise sur le marché de la préparation SERENADE MAX pour les usages mentionnés "favorable" à l'annexe 2 et **défavorable** pour les usages mentionnés "défavorable", dans les conditions d'emploi précisées ci-dessous. L'avis de l'Anses pourra être revu à la lumière des nouvelles données, notamment de résultats des essais de valeur pratique, à fournir dans un délai de 3 ans.

La substance active *Bacillus subtilis*, souche QST 713 étant en cours de réévaluation au niveau européen, la préparation SERENADE MAX devra être réexaminée ultérieurement sur la base des critères qui seront précisés dans le rapport d'évaluation européen final et dans les délais qui seront indiqués dans la directive d'inscription.

**Classification du *Bacillus subtilis*, souche QST 713 : Sans classification**

**Classification<sup>12</sup>, de la préparation SERENADE MAX, phrases de risque et conseils de prudence :**  
**Sans classification**

"Contient du *Bacillus subtilis*. Peut provoquer des réactions de sensibilisation"

**Conditions d'emploi**

- Porter des gants, un vêtement de protection et un masque de protection respiratoire pendant les phases de manipulation du produit.
- Délai de rentrée : attendre le séchage complet de la zone traitée.
- SP1 : Ne pas polluer l'eau avec le produit ou son emballage. [Ne pas nettoyer le matériel d'application près des eaux de surface. /Eviter la contamination via les systèmes d'évacuation des eaux à partir des cours de ferme ou des routes.].
- SPe3 : Pour protéger les organismes aquatiques, respecter une zone non traitée de 5 mètres par rapport aux points d'eau pour tous les usages, excepté le houblon.
- SPe3 : Pour protéger les organismes aquatiques, respecter une zone non traitée de 20 mètres par rapport aux points d'eau pour l'usage sur houblon.
- Limites maximales de résidus : non nécessaire (*Bacillus subtilis*, souche QST 713 est inclus à l'annexe IV du règlement (CE) n° 396/2005<sup>13</sup>).
- Délais avant récolte : 1 jour pour toutes les cultures.
- Ne pas stocker la préparation SERENADE MAX à une température supérieure à 40°C.
- Maintenir l'agitation pendant l'application de la bouillie.

**Commentaires sur les préconisations agronomiques figurant sur l'étiquette**

Il conviendra de préciser que l'efficacité peut être variable selon les conditions d'utilisation et le risque de marquage du raisin de table.

**Marc MORTUREUX**

**Mots-clés :** SERENADE MAX, fongicide, *Bacillus subtilis*, souche QST 713, WP, arboriculture fruitière, baies rouges, cultures tropicales, cultures ornementales, gazons de graminées, PPAMC, cultures légumières, PAMM

<sup>12</sup> Directive 1995/45/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mai 1999 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relative à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des préparations dangereuses.

<sup>13</sup> List of active substances of plant protection products evaluated under Directive 91/414/EEC for which no MRLs are required, referred to in Article 5(1).  
 Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005, concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil (JOCE du 16/03/2005) et règlements modifiant ses annexes II, III et IV relatives aux limites maximales applicables aux résidus des produits figurant à son annexe I.

## Annexe 1

## Liste des usages revendiqués pour la préparation SERENADE MAX

Substance	Composition de la préparation	Dose de substance active
<i>Bacillus subtilis</i> , souche QST 713	156,7 g/kg (5,13 10 <sup>13</sup> UFC/kg)	313,4 g sa/ha/appl 1410,3 sa/ha/appl pour le houblon 1,6 g sa/100 kg de compost pour les champignons de couche

Usages	Dose d'emploi	Nombre maximum d'applications	DAR (en jours)
12703205*Vigne*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	0
Vigne*Traitement des parties aériennes* pourriture acide	2 kg/ha	8	0
Vigne*Traitement des parties aériennes* limitation des ochratoxines	2 kg/ha	8	0
12613302*Poirier-cognassier-nashi*Traitement des parties aériennes* feu bactérien	2 kg/ha	8	0
12603303*Pommier*Traitement des parties aériennes* feu bactérien	2 kg/ha	8	0
12603203*Pommier*Traitement des parties aériennes* tavelure	2 kg/ha	8	0
12613202*Poirier-cognassier-nashi*Traitement des parties aériennes* tavelure du poirier	2 kg/ha	8	0
12573233*Abricotier*Traitement des parties aériennes* moniliose sur fleurs et rameaux	2 kg/ha	8	0
12203208*Cerisier*Traitement des parties aériennes* moniliose sur fleurs et rameaux	2 kg/ha	8	0
12203209*Cerisier*Traitement des parties aériennes* moniliose sur fruits	2 kg/ha	8	0
12553202*Pêcher*Traitement des parties aériennes* moniliose sur fruits (y compris nectarine)	2 kg/ha	8	0
12453301*Noyer*Traitement des parties aériennes* bactérioses	2 kg/ha	8	0
Avocatier*Traitement des parties aériennes* Anthracnose	2 kg/ha	8	0
13153201*bananier*Traitement des parties aériennes* cercosporiose	2 kg/ha	8	0
Manguier*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	0
12153208*Cassissier*Traitement des parties aériennes* Botrytis	2 kg/ha	8	0
12153202*Cassissier*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	0
12353205*Framboisier et autres rubus*Traitement des parties aériennes* Botrytis	2 kg/ha	8	0
12353204*Framboisier et autres rubus*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	0
16553205*Fraise*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	0
16553201*Fraise*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	0
Laitue*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	0
16603201*Laitue*Traitement des parties aériennes* pourriture du collet de la laitue (sclerotiniose)	2 kg/ha	8	0
16953301*Tomate*Traitement des parties aériennes* bactériose	2 kg/ha	8	0
16953203*Tomate*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	0

Usages	Dose d'emploi	Nombre maximum d'applications	DAR (en jours)
16753205*Melon*Traitement des parties aériennes* Oïdium (y compris courge, potiron, citrouille...)	2 kg/ha	8	0
16343206*Courgette*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	0
19993200*Plantes aromatique*Traitement des parties aériennes*maladies diverses	2 kg/ha	8	0
17403200*Toutes espèces florales*Traitement des parties aériennes*maladies diverses	2 kg/ha	8	-
14053200*Arbres et arbustes d'ornement *Traitement des parties aériennes*maladies diverses	2 kg/ha	8	-
18503210*Gazons de graminées*Traitement des parties aériennes*maladies diverses	2 kg/ha	8	-
15353206*Houblon*Traitement des parties aériennes* Oïdium	0,3 kg/hL	8	0
16302206*Champignon de couche*Traitement du compost*traitements des substrats et des terreaux	10 g/100 kg de compost	1	0

## Annexe 2

## Proposition d'avis pour les usages revendiqués pour la préparation SERENADE MAX

Usages	Dose d'emploi	Nombre maximum d'applications	DAR (jours)	Proposition d'avis	Demandes complémentaires
12703205*Vigne*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	1	Favorable	
Vigne*Traitement des parties aériennes* pourriture acide	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
Vigne*Traitement des parties aériennes* limitation des champignons producteurs d'ochratoxines	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
12613302*Poirier-cognassier-nashi* Traitement des parties aériennes* feu bactérien	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12603303*Pommier* Traitement des parties aériennes* feu bactérien	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12603203*Pommier*Traitement des parties aériennes* tavelure	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12613202*Poirier-cognassier-nashi* Traitement des parties aériennes* tavelure du poirier	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12573233*Abricotier* Traitement des parties aériennes* moniliose sur fleurs et rameaux	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12203208*Cerisier* Traitement des parties aériennes* moniliose sur fleurs et rameaux	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12203209*Cerisier* Traitement des parties aériennes* moniliose sur fruits	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12553202*Pêcher* Traitement des parties aériennes* moniliose sur fruits (y compris nectarine)	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12453301*Noyer* Traitement des parties aériennes* bactérioses	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
Avocatier*Traitement des parties aériennes* Anthracnose	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique et données de phytotoxicité
13153201*Bananier* Traitement des parties aériennes* cercosporiose	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
Manguier*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12153208*Cassissier* Traitement des parties aériennes* Botrytis	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
12153202*Cassissier* Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
12353205*Framboisier et autres rubus*Traitement des parties aériennes* Botrytis	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
12353204*Framboisier et autres rubus*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique et données de phytotoxicité
16553205*Fraise*Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	0	Défavorable	



Usages	Dose d'emploi	Nombre maximum d'applications	DAR (jours)	Proposition d'avis	Demandes complémentaires
16553201*Fraise*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
Laitue*Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
16603201*Laitue* Traitement des parties aériennes*pourriture du collet de la laitue (sclérotiniose)	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
16953301*Tomate* Traitement des parties aériennes* bactériose	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
16953203*Tomate* Traitement des parties aériennes* pourriture grise	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
16753205*Melon* Traitement des parties aériennes* Oïdium (y compris courge, potiron, citrouille...)	2 kg/ha	8	0	Défavorable	
16343206*Courgette* Traitement des parties aériennes* Oïdium	2 kg/ha	8	1	Favorable	Essais de valeur pratique
19993200*Plantes aromatique* Traitement des parties aériennes* maladies diverses	2 kg/ha	8	1	Favorable uniquement contre l'oïdium	Essais de valeur pratique
17403200*Toutes espèces florales* Traitement des parties aériennes* maladies diverses	2 kg/ha	8	-	Favorable uniquement contre oïdium, bactériose et pourriture grise	Essais de valeur pratique
14053200*Arbres et arbustes d'ornement *Traitement des parties aériennes*maladies diverses	2 kg/ha	8	-	Défavorable	
18503210*Gazons de graminées*Traitement des parties aériennes* maladies diverses	2 kg/ha	8	-	Défavorable	
15353206*Houblon* Traitement des parties aériennes* Oïdium	0,3 kg/hL	8	0	Défavorable	
16302206*Champignon de couche*Traitement du compost*traitements des substrats et des terreaux	10 g/100 kg de compost	1	1	Favorable	