

Maisons-Alfort, le 22/07/2019

Conclusions de l'évaluation

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché de la société LHOIST France OUEST pour le produit AA02LA

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

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

Le présent document ne constitue pas une décision.

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Anses a accusé réception d'une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) de la société LHOIST France OUEST pour le produit AA02LA.

Le produit AA02LA est composé de *Pseudomonas fluorescens* (souche B177) et de *Trichoderma harzianum* (souche B97).

Ce produit se présente sous la forme d'une poudre mouillable et est proposé, dans le cadre de la norme NF U44-204, pour une utilisation en tant qu'additif agronomique (stimulateur de croissance et/ou de développement des plantes) en mélange avec des amendements minéraux basiques (AMB) NF U44-001 de classe III (chaux).

Conformément à la norme NF U44-204, les additifs agronomiques visés par cette norme doivent, préalablement à leur utilisation en mélange avec les engrais et/ou amendements visés par cette norme, faire l'objet d'une autorisation de mise sur le marché pour cet usage.

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit AA02LA concernent la « biostimulation » de la croissance des plantes (biomasse végétale) et l'amélioration de l'assimilation des éléments nutritifs.

Les caractéristiques garanties et les usages revendiqués par le demandeur pour le produit AA02LA sont présentés en annexe 1.

Le mélange AA02LA/amendement minéral basique est épandu au sol en plein avec incorporation immédiate.

Le produit AA02LA est identique au produit CERES bénéficiant d'une autorisation de mise sur le marché en France (AMM n° 1150002). Une lettre d'accès aux éléments du dossier soumis et aux conclusions de l'évaluation conduite dans le cadre de la demande d'AMM déposée pour le produit CERES a été soumise autorisant l'Anses à utiliser ces éléments pour évaluer la demande d'AMM déposée par la société Lhoist France Ouest pour le produit AA02LA. Des données additionnelles spécifiques aux mélanges additif/amendement considérés ont également été soumises.

L'évaluation de la présente demande est donc fondée sur l'examen par la Direction d'évaluation des produits réglementés (DEPR) du dossier déposé à l'Anses pour cet additif agronomique, 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 » (en cours de révision).

Les données prises en considération sont celles soumises par le demandeur et jugées valides par la DEPR, ainsi que l'ensemble des éléments dont la DEPR a eu connaissance. Les conclusions relatives à la conformité des éléments présentés se réfèrent aux critères définis dans le « Guide pour la constitution des dossiers de demande d'homologation Matières fertilisantes - Supports de culture » (formulaire cerfa n° 50644#01), sous réserve de l'utilisation des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture dans le respect des bonnes pratiques agricoles.

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

SYNTHESE DE L'EVALUATION

Après évaluation de la demande et avec l'accord d'un groupe d'experts du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture", réuni le 4 avril 2019, la Direction d'évaluation des produits réglementés émet les conclusions suivantes.

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

Caractérisation et procédé de fabrication

Les spécifications du produit AA02LA, telles que décrites dans le formulaire cerfa n° 11385 et la fiche d'information, permettent de le caractériser et sont conformes aux dispositions réglementaires.

Le procédé de production du produit AA02LA repose sur l'incorporation des micro-organismes (*Trichoderma harzianum* et *Pseudomonas fluorescens*) séchés à un support organique (maltodextrine).

Le procédé d'obtention du mélange du produit AA02LA avec les amendements minéraux basiques est décrit. Pour préserver la viabilité des micro-organismes composant le produit AA02LA, celui-ci est tout d'abord incorporé à 10% en masse à un support inerte de type dolomie crue (poudre). Ce mélange est ensuite incorporé de façon homogène à l'amendement minéral basique sous forme poudre.

La souche B177 de *Pseudomonas fluorescens* et B97 de *Trichoderma harzianum* sont des souches naturelles isolées de sols français. Ces souches font partie de la collection interne de la société BIOVITIS et sont déposées respectivement sous le numéro I-4015 et I-4013 dans la Collection Nationale de Culture de Micro-organismes (CNCM, Institut Pasteur, France). Le demandeur déclare que ces souches ne sont pas manipulées génétiquement.

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.

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.

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 du produit AA02LA, ne présentent pas de dangers physico-chimiques particuliers.

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

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

Les analyses présentées sont effectuées par des laboratoires accrédités selon la norme NF EN/ISO IEC 17025 ou par le Comité français d'accréditation (COFRAC).

Les méthodes d'analyse mises en œuvre pour la caractérisation du produit et le dénombrement des micro-organismes dans le produit AA02LA sont considérées comme acceptables.

Les méthodes de caractérisation des micro-organismes au niveau de la souche B177 de *Pseudomonas fluorescens* et de la souche B97 de *Trichoderma harzianum* (marqueurs SCARs³) ont été soumises et considérées acceptables.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles⁴ près, la conformité de chaque unité de commercialisation de la matière fertilisante aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique.

Constance de composition

La constance de composition du produit AA02LA relative aux éléments de marquage obligatoire est convenablement établie pour l'homogénéité et l'invariance.

Les résultats d'une étude de stabilité réalisée sur le mélange AA02LA/dolomie/amendement calcique (chaux) montrent que les teneurs en *Trichoderma harzianum* B97 et *Pseudomonas fluorescens* B177 restent dans les valeurs garanties après 11 semaines de stockage à 20 °C dans un emballage plastique.

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

Profil toxicologique

Aucune des matières premières du produit AA02LA n'est considérée comme une substance dangereuse au sens de la réglementation européenne pour l'homme.

Les deux espèces de micro-organismes présentes dans la préparation AA02LA n'appartiennent pas à la liste des pathogènes pour l'Homme (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 à *Pseudomonas fluorescens* et *Trichoderma harzianum* ont été observées chez des individus immunodéprimés.

Les données disponibles sur chacune des souches indiquent qu'elles ne sont pas toxiques, pathogènes, infectieuses ou capables de proliférer. La clairance pulmonaire est estimée à 64 jours pour *Trichoderma harzianum*. Elle est totale pour *Pseudomonas fluorescens* (aucun organisme viable n'est retrouvé 3 jours après l'administration).

³ SCAR = sequence-characterized amplified region

⁴ Arrêté du 7 juillet 2005 relatif aux écarts admissibles en ce qui concerne les matières fertilisantes et les supports de culture

Aucune information n'a été communiquée dans le dossier sur les potentiels résistances aux antibiotiques.

Analyses réglementaires

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité⁵ pour la mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi préconisées.

Les teneurs en composés traces organiques 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 du produit par des micropolluants organiques.

Les analyses microbiologiques présentées montrent que le produit AA02LA respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques de référence⁶.

Etudes toxicologiques, autres analyses

Les essais de toxicologie réalisés sur le produit AA02LA n'ont montré aucun effet irritant oculaire, ni aucun effet toxique ou irritant par voie cutanée.

Des difficultés respiratoires et de la toux ont été rapportées chez des travailleurs sous serres utilisant des produits phytopharmaceutiques à base de différents micro-organismes dont *Trichoderma harzianum*.⁶ Toutefois, les conditions d'utilisation et d'exposition de ces travailleurs ne sont pas connues. Il conviendra donc de porter un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3.

Classement et conditions d'emploi proposés

La classification toxicologique du produit AA02LA, déterminée au regard des données toxicologiques disponibles et de la classification des matières premières et de leur teneur dans le produit fini est, au sens du règlement (CE) n° 1272/2008 : sans classement.

Néanmoins, s'agissant d'une matière fertilisante à base de microorganismes, la phrase de précaution « *Contient Pseudomonas fluorescens et Trichoderma harzianum. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation* » devra être mentionnée sur l'étiquette.

De plus, le produit AA02LA ne devra pas être utilisé par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.

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

⁵ 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 »

⁶ Poulsen, 2003 : Project 2.6 Bio-pesticide work process-exposure matrix model. BIOGART. Project 3.5 Risk assessment of work with bio-pesticides source: "Center for Miljø og Luftveje. Final report" Research Centre "Environment and the Lung".

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

Pseudomonas fluorescens et *Trichoderma harzianum* sont connus pour produire des métabolites secondaires. Aucune données spécifiques sur la nature et la toxicité des métabolites secondaires produits par les deux souches contenues dans la préparation AA02LA n'a été soumise.

Compte tenu des usages revendiqués (céréales, maïs, colza et tournesol) et de la période d'application du produit (semis) et du fait de l'occurrence naturelle des souches (cf paragraphe ci-dessous) un contact des parties consommables avec le sol et donc une contamination des parties consommables par ces métabolites ne sont pas attendus.

Par conséquent, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur dans les conditions revendiquées d'utilisation de la préparation sur céréales, maïs, colza et tournesol.

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

Aucun test d'écotoxicité et d'impact n'a été réalisé avec le produit AA02LA.

Une analyse bibliographique non exhaustive sur l'occurrence naturelle des micro-organismes entrant dans la composition du produit AA02LA a été soumise. Celle-ci montre que les souches *Pseudomonas fluorescens* (souche B177) et de *Trichoderma harzianum* (souche B97) sont naturellement présentes dans les sols et notamment dans la rhizosphère. Par ailleurs, une décroissance de la population introduite dans les sols, jusqu'à un retour au niveau d'occurrence naturelle en lien avec les facteurs biotiques et abiotiques et la compétition de ces souches avec les populations microbiennes autochtones, est attendue.

En conséquence, compte tenu de la nature des matières premières, il n'est pas attendu d'impact néfaste sur le milieu naturel lié à l'utilisation du produit AA02LA.

Classement proposé

La classification du produit AA02LA vis-à-vis de l'environnement, déterminée par calcul au regard de la classification des matières premières ainsi que de leurs teneurs dans le produit fini est, au sens du règlement (CE) n° 1272/2008 : sans classement.

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

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit AA02LA concernent la « biostimulation » de la croissance des plantes (biomasse végétale) et l'amélioration de l'assimilation des éléments nutritifs (formulaire cerfa n° 11385 du 11/01/2018).

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

Les revendications du produit sont basées sur la nature de ses éléments de composition : inoculum de *Pseudomonas fluorescens* (souche B177) et de *Trichoderma harzianum* (souche B97).

Le choix des deux souches microbiennes incorporées dans le produit AA02LA repose sur des données bibliographiques qui montrent les capacités de ces deux micro-organismes à stimuler la croissance des plantes et induire des augmentations de rendement, en particulier en conditions de stress. Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont particulièrement connues pour leurs effets sur la production de sidérophores, la solubilisation des phosphates ou encore la production d'ACC-déaminase.

Il convient de signaler que des préparations à base de *Trichoderma harzianum* souche T22 disposent actuellement d'une autorisation de mise sur le marché au titre des produits phytopharmaceutiques comme stimulateurs de défenses naturelles.

Essais d'efficacité

La démonstration de l'efficacité de la préparation microbienne AA02LA en tant qu'additif agronomique s'appuie sur 3 essais (1 essai sur orge, 1 essai sur maïs et un essai sur colza) en conditions contrôlées (sous serre). Aucun essai en conditions réelles d'utilisation (champs) n'a été présenté.

Dans les essais conduits sous serre, AA02LA associé à un amendement minéral basique (chaux calcique vive) est comparé à un témoin non fertilisé et à un témoin amendement seul. Le produit AA02LA et l'amendement minéral basique sont apportés respectivement à 4 mg et 0,5 g par litre de sol, ce qui correspond à une dose de 2 kg/ha d'additif pour 250 kg/ha d'amendement minéral basique⁷.

La dose de produit AA02LA testée dans ces essais est supérieure (X5) à celle revendiquée (0,4 kg/ha). En conséquence, les résultats présentés ne peuvent pas être considérés dans le cadre de l'évaluation de l'efficacité de la préparation microbienne AA02LA en tant qu'additif agronomique.

L'efficacité du produit AA02LA pour un usage en mélange avec des amendements minéraux basiques NF U44-001 de classe III (chaux) ne peut pas être considérée comme démontrée dans les conditions d'emploi revendiquées.

Par ailleurs, les analyses statistiques soumises sont incomplètes (aucune indication de la vérification des conditions d'application de l'analyse de variance ne figure dans les rapports d'essai).

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi proposé par le demandeur est suffisant pour permettre une bonne utilisation de AA02LA comme additif agronomique en mélange avec les amendements minéraux basiques.

Le produit AA02LA ne doit pas être utilisé seul.

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

Compte tenu de l'ensemble des données d'efficacité présentées, l'évaluation de l'efficacité du produit AA02LA en tant qu'additif agronomique en mélange avec des amendements minéraux basiques ne peut être finalisée [essais en conditions contrôlées non valides sur orge, maïs et colza (la dose testée ne correspond pas à la dose revendiquée) ; absence d'essais sur tournesol].

La dénomination de classe et de type qui pourrait être proposée est : « Additif agronomique autorisé pour un usage en mélange avec des amendements minéraux basiques conformes à la norme NF U44-001 classe III » - « Préparation microbienne (poudre) à base de *Pseudomonas fluorescens* (souche B177) et de *Trichoderma harzianum* (souche B97) ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique, notamment sur la vigueur des plantes ou la stimulation des défenses naturelles, ne devrait être faite sur les supports d'information et de communication.

⁷ En considérant 750 tonnes de sol par ha et une densité de sol de 1,5

SYNTHESE DES RESULTATS DE L'EVALUATION

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

- A.** La caractérisation et la constance de composition du produit AA02LA relative aux éléments de marquage obligatoire sont établies de manière satisfaisante.

L'étude de stabilité réalisée sur le mélange AA02LA/dolomie/amendement calcique (chaux) montre que les teneurs en *Trichoderma harzianum* B97 et *Pseudomonas fluorescens* B177 restent dans les valeurs garanties après 11 semaines de stockage à température ambiante (20°C).

- B.** Dans le cadre des usages et des conditions d'emploi retenus suite à l'évaluation (points I et IV des conclusions), le produit AA02LA est considéré comme conforme aux dispositions réglementaires pour les contaminants chimiques et biologiques pour lesquels il existe une valeur de référence.

Par ailleurs, considérant l'ensemble des éléments disponibles, aucun effet néfaste pour l'homme ou l'environnement lié à l'utilisation du produit AA02LA en tant qu'additif agronomique n'est attendu dans le cadre des usages et des conditions d'emploi retenus suite à l'évaluation (points I et IV des conclusions).

Aucune information n'a été communiquée dans le dossier sur les potentiels transfert de gènes de résistance aux antibiotiques.

À noter que les conclusions relatives à l'innocuité concernent uniquement l'additif AA02LA seul et non le mélange avec les amendements considérés.

- C.** Compte tenu des biais identifiés dans les données d'efficacité présentées, l'évaluation de l'efficacité du produit AA02LA en tant qu'additif agronomique en mélange avec des amendements minéraux basiques ne peut être finalisée.

La dénomination de classe et de type qui pourrait être proposée est : « Additif agronomique autorisé pour un usage en mélange avec des amendements minéraux basiques conformes à la norme NF U44-001 classe III » - « Préparation microbienne (poudre) à base de *Pseudomonas fluorescens* (souche B177) et de *Trichoderma harzianum* (souche B97) ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique, notamment sur la vigueur des plantes ou la stimulation des défenses 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-après.

I. Usages : résultats de l'évaluation pour une autorisation de mise sur le marché du produit AA02LA.

Type de matières fertilisantes en mélange avec AA02LA	Dose d'incorporation de AA02LA dans le mélange	Cultures	Epoques d'apport	Nombre maximal d'apport par an	Conclusion (commentaires)
Amendements minéraux basiques conformes à la norme NF U44-001 classe III (chaux)	0,16% (p/p) (soit 400 g pour 250 kg d'amendement par ha)	Céréales	Semis	1	Non finalisé (efficacité)
		Maïs			Non finalisé (efficacité)
		Colza			Non finalisé (efficacité)
		Tournesol			Non finalisé (absence d'essais d'efficacité)

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 du produit AA02LA

Paramètres déclarables retenus	Teneurs garanties retenues (sur produit brut)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (souche B177)	1.10 ⁸ ufc/g
<i>Trichoderma harzianum</i> (souche B97)	1.10 ⁶ ufc/g
Maltodextrine	80%

III. Classification de du produit AA02LA au sens du règlement (CE) n° 1272/2008

Sans classement

IV. Conditions d'emploi

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

Les réglementations relatives aux amendements ainsi que les bonnes pratiques de fertilisation s'appliquent aux mélanges additif agronomique AA02LA / amendement.

La mention : « Contient *Pseudomonas fluorescens* et *Trichoderma harzianum*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette.

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

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

Durée maximale de stockage avant utilisation du mélange AA02LA/dolomie/amendement (chaux) : 11 semaines à température ambiante (20°C).

Mots-clés : AA02LA - additif agronomique - NF U44-204 – *Pseudomonas fluorescens* (souche B177) - *Trichoderma harzianum* (souche B97) - poudre – grandes cultures - FSIM.

ANNEXE 1

Éléments de marquage revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit AA02LA

Paramètres déclarables	Valeurs garanties (sur produit brut)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (souche B177)	1.10 ⁸ ufc/g
<i>Trichoderma harzianum</i> (souche B97)	1.10 ⁶ ufc/g
Maltodextrine	80 %

Usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit AA02LA

(Formulaire cerfa n° 11385 du 11 janvier 2018)

Cultures	Dose maximale de AA02LA par apport (en kg/ha)	Nombre maximal d'apport par an	Dose d'emploi de l'additif	Epoques d'apport
Céréales	0,4	1	Incorporé à 0,16% (p/p) dans les amendements minéraux basiques conformes à la norme NF U44-001 classe III (soit 400 g pour 250 kg d'amendement par ha)	Semis
Maïs				
Colza				
Tournesol				