

Maisons-Alfort, le 9 mars 2018

Conclusions de l'évaluation relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché de la société MONSANTO SAS pour le produit B-360

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 de la société MONSANTO SAS pour le produit B-360.

Le produit B-360 est composé de lipo-chitooligosaccharide (LCO) SP104 et se présente sous forme d'une solution à diluer avant utilisation en traitement des semences de maïs.

Les effets revendiqués par le demandeur pour le produit B-360 concernent la stimulation de la germination des spores mycorhiziennes, l'augmentation de la colonisation mycorhizienne des racines du maïs, l'amélioration du développement des racines du maïs et l'augmentation du potentiel de rendement du maïs.

Les caractéristiques garanties pour le produit B-360 et les usages revendiqués par le demandeur sont présentés en annexe 1.

L'évaluation de la présente demande est fondée sur l'examen par la Direction d'évaluation des produits réglementés (DEPR) du dossier déposé à l'Anses pour cette matière fertilisante, conformément aux dispositions du code rural et de la pêche maritime¹ et sur la base des recommandations proposées dans la « Note d'information aux demandeurs concernant l'homologation des MFSC² ».

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.

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 13 février 2018, 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 B-360 telles que décrites sur le formulaire cerfa n° 11385 et la fiche d'information permettent de le caractériser et sont conformes aux dispositions réglementaires.

Le procédé de production du produit B-360 repose sur le mélange des matières premières (LCO, conservateurs et ajusteurs de pH) à pH contrôlé. La composante principale du produit est partiellement produite par un procédé de biosynthèse microbien, puis purifiée avant de subir une acylation pour être transformée en lipo-chitooligosaccharides. Chaque lot de production industriel correspondra à un volume compris entre 1136 L et 4542 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. Le site de fabrication est certifié ISO 9001 : 2008 pour la conception, développement et production de produits de protection des plantes et de biostimulants pour l'agriculture. La gestion des non-conformités est pertinente.

Les attestations croisées de fourniture et d'approvisionnement sont présentées de manière exhaustive pour ce qui concerne les sources des matières premières. Toute autre provenance correspondrait à un changement de composition et nécessiterait une évaluation complémentaire.

Les matières premières, ainsi que le procédé de fabrication, ne présentent pas de dangers physico-chimiques particuliers.

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

Le produit n'étant pas encore commercialisé, les échantillons utilisés pour les essais, les analyses de caractérisation et les études de stabilité, proviennent de lots fabriqués spécifiquement à cet effet. Il n'y a pas à proprement dit d'échantillonnage sur un lot existant. Toutefois, un récapitulatif des échantillons utilisés au cours des différentes études avec les dates de production et de prélèvement, les volumes prélevés ainsi que l'analyse concernée par échantillon a été présenté dans le dossier technique.

Les méthodes d'analyse utilisées dans le cadre de ce dossier ont été évaluées et sont jugées acceptables.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles³ 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 B-360 relative à l'élément de marquage obligatoire LCO, réalisée sur des lots de petits volumes fabriqués en laboratoire, est convenablement établie pour l'homogénéité et l'invariance. Il conviendra toutefois de fournir une nouvelle étude d'invariance en conditions de production industrielle afin de s'assurer de l'invariance des lots produits.

Par ailleurs, une étude de vieillissement accéléré (2 semaines à 54°C) a été mise en œuvre et montre une bonne stabilité du produit pour le paramètre revendiqué (LCO). L'étude de stockage accéléré donne des informations sur l'incidence de la température élevée sur le produit et une estimation sur sa stabilité à long-terme.

³ Arrêté du 7 juillet 2005 relatif aux écarts admissibles en ce qui concerne les matières fertilisantes et les supports de culture

Il conviendra toutefois de soumettre les résultats de l'étude de stabilité au stockage de 2 ans (en cours) afin de confirmer la stabilité du produit dans les conditions de stockage préconisées (stockage dans un endroit frais, à l'abri de la lumière du soleil et de sources directe de chaleur).

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

Profil toxicologique

Certaines des matières premières composant le produit B-360 disposent d'un classement harmonisé au sens du règlement (CE) n° 1272/2008⁴. Au vu de leurs teneurs dans le produit B-360 seule la 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one entraîne la classification H317 du produit B-360.

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 l'autorisation de mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi préconisées.

Les teneurs en composés traces organiques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et 7 PCBs⁶) 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 effectuées sur un seul échantillon montrent que le produit B-360 respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques de référence⁵.

Etudes toxicologiques, autres analyses

Aucun essai de toxicologie n'a été réalisé sur le produit B-360.

Classement et conditions d'emploi proposés

La classification toxicologique du produit B-360, déterminée 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 : **H317** (Peut provoquer une allergie cutanée).

Considérant l'ensemble des informations disponibles, des gants et un vêtement de protection appropriés devront être portés.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

Compte tenu de la nature du produit, de l'usage (maïs), de la dose d'application (0,33 mL/kg de semences) et du mode d'apport (traitement de semences) revendiqués, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur dans les conditions d'emploi préconisées.

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

Aucun test d'écotoxicité, ni essai visant à mesurer l'effet environnemental du produit B-360 n'a été effectué. Toutefois, compte tenu du mode d'apport (traitement de semences), de la nature du produit et du faible apport annuel en LCO (95,6 ng LCO.ha⁻¹), l'exposition des organismes terrestres et aquatiques est considérée négligeable. De ce fait, aucun risque inacceptable lié à l'application du produit B-360 n'est attendu pour les organismes terrestres et aquatiques dans les conditions d'emploi revendiquées.

⁴ Règlement (CE) n° 1272/2008 = Règlement du Parlement Européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges.

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 PCB = polychlorobiphényle

Classement proposé

La classification du produit B-360 vis-à-vis de l'environnement, déterminée par calcul au regard de la classification des matières premières, de leurs teneurs dans le produit fini et des tests d'écotoxicité 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 B-360 concernent la stimulation de la germination des spores de champignons mycorhiziens, l'augmentation de la colonisation par les champignons mycorhiziens des racines du maïs, l'amélioration du développement des racines du maïs et l'augmentation du potentiel de rendement du maïs (formulaire cerfa n° 11385 du 28 septembre 2017).

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

Les effets de B-360 sont basés sur la nature de ses éléments de composition : lipochitooligosaccharides (LCO).

Le mode d'action proposé par le pétitionnaire pour le produit repose sur les données présentées dans des publications fournies avec le dossier.

Les LCO sont synthétisés et libérés dans le sol par des micro-organismes symbiotes et sont les pivots de l'association symbiotique entre les plantes et les inoculants couramment utilisés en agriculture tels que *Bradyrhizobium spp.*, *Rhizobium spp.*, ou encore, *Mycorrhizae spp.*

L'exposition des champignons mycorhiziens aux LCO permet une activité pré-symbiotique précoce et plus importante de ces organismes avec les plantes par rapport aux champignons mycorhiziens seuls. En particulier, la littérature disponible montre que ces LCO peuvent stimuler la colonisation de la racine de la plante par le champignon mycorhizien et améliorer le développement des racines.

Essais d'efficacité

Le demandeur présente, à l'appui des revendications, 2 études en conditions contrôlées et 11 essais dans les conditions d'emploi préconisées.

Essai en conditions contrôlées

La première étude a permis d'étudier l'effet du produit B-360 sur la germination des spores de champignons mycorhiziens (*Glomus*) et la colonisation des racines de maïs par ces champignons.

Seuls le protocole et les résultats de l'étude sont fournis. Le rapport d'étude ne présente pas les données brutes et la méthode statistique appliquée pour l'analyse des résultats.

D'après les résultats soumis, l'apport de B-360 (10 µL dans des tubes) à des spores de champignons mycorhiziens permet une augmentation de 60 % de la germination de ces spores par rapport à un témoin (« blanc de formulation »). L'apport de B-360 à la dose revendiquée de 0,33 mL/kg de semences dans un milieu inoculé avec des champignons mycorhiziens permet une augmentation de 50 à 67 % de la colonisation des racines par ces champignons par rapport à un témoin non traité. Néanmoins, ces différences ne sont pas démontrées par une analyse statistique au seuil de 5 %.

La deuxième étude a permis d'étudier l'effet du produit B-360 sur les racines de maïs.

Seuls le protocole et les résultats de l'étude sont fournis. Le rapport d'étude ne présente pas les données brutes et la méthode statistique appliquée pour l'analyse des résultats.

D'après les résultats soumis, l'apport de B-360 à la dose revendiquée de 0,33 mL/kg de semences permet une augmentation de 25 % de la longueur des racines, 22 % de la surface des racines, 33 % du volume des racines par rapport à un témoin blanc de formulation et de 10 % du poids sec des racines par rapport au témoin traité à l'eau. Néanmoins, ces différences ne sont pas démontrées par une analyse statistique au seuil de 5 %.

Essai en conditions d'emploi préconisées

Onze essais d'efficacité sur maïs ont été réalisés en France en 2015 avec une formulation différente de celle revendiquée. Compte tenu du caractère mineur des différences entre les 2 formulations, les résultats obtenus avec la formulation testée peuvent être extrapolés au produit B-360. Dans ces essais, la formulation testée est appliquée en traitement de semences à la dose revendiquée de 0,33 mL/kg de semences. Parmi les 11 essais, 8 ont été jugés valides.

Par ailleurs, ces essais n'ont pas fait l'objet de mesures liées aux effets revendiqués sur la mycorhization ou sur le développement des racines.

Les analyses statistiques de chaque essai considéré individuellement ne mettent en évidence aucun effet significatif de la formulation testée sur le rendement du maïs par rapport au témoin non traité.

Une analyse statistique du regroupement des 8 essais met en évidence un effet significatif de la formulation testée sur le rendement du maïs par rapport au témoin non traité. Néanmoins, cette analyse statistique ne prend pas en compte la variabilité résiduelle intra-essai et son résultat est donc discutable.

Une analyse statistique d'un regroupement de 48 essais européens a également été soumise. Toutefois, compte tenu de l'absence des rapports des essais individuels comprenant les données brutes, ces résultats ne sont pas considérés exploitables.

Conclusions sur le mode d'emploi

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

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

L'ensemble des données d'efficacité présentées sont considérées insuffisantes pour finaliser l'évaluation des revendications présentées par le demandeur pour le produit B-360 relatives à la stimulation de la germination des spores de champignons mycorhiziens, à l'augmentation de la colonisation par les champignons mycorhiziens des racines de maïs, à l'amélioration du développement des racines de maïs et à l'augmentation du potentiel de rendement du maïs.

La dénomination de classe et de type proposée pourrait être : « Matière fertilisante » - « Lipochitoooligosaccharide (LCO) SP104 ».

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 (homogénéité et invariance) du produit B-360 sont établies de manière satisfaisante pour le paramètre de marquage obligatoire LCO. Toutefois, l'étude de constance de composition ayant été réalisée sur des lots produits en laboratoire, il conviendra de soumettre une nouvelle étude d'invariance réalisée sur des lots industriels afin de confirmer la constance de composition du produit B-360.

L'étude de stabilité accélérée montre que le produit B-360 est stable 2 semaines à 54°C. Il conviendra de soumettre les résultats de l'étude de stabilité au stockage de 2 ans dans des conditions d'entrepôt afin de confirmer la stabilité du produit dans les conditions de stockage préconisées (stockage dans un endroit frais, à l'abri de la lumière du soleil et de sources directe de chaleur).

B. Dans le cadre des usages retenus et dans les conditions d'emploi précisés ci-dessous, le produit B-360 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 B-360 n'est attendu pour les usages retenus et dans les conditions d'emploi précisées ci-dessous.

C. L'ensemble des données d'efficacité présentées sont considérées insuffisantes pour finaliser l'évaluation des revendications présentées par le demandeur pour le produit B-360 relatives à la stimulation de la germination des spores de champignons mycorhiziens, à l'augmentation de la colonisation par les champignons mycorhiziens des racines de maïs, à l'amélioration du développement des racines de maïs et à l'augmentation du potentiel de rendement du maïs.

La dénomination de classe et de type proposée pourrait être : « Matière fertilisante » - « Lipo-chitooligosaccharide (LCO) SP104 ».

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. Résultats de l'évaluation pour les usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit B-360

Culture	Dose par apport (mL/kg de semences)	Nombre d'apport par an	Epoque d'apport	Conclusion (commentaires)
Maïs	0,33	1	Au semis	Non finalisée (efficacité)

II. Résultats de l'évaluation pour les éléments de marquage obligatoire et les teneurs garanties pour une autorisation de mise sur le marché du produit B-360

Paramètres déclarables retenus	Teneurs garanties retenues (sur produit brut)
Matières sèche	0,24 %
Lipo-chitooligosaccharide (LCO) SP104	1.10 ⁻⁶ %

III. Classification du produit B-360 au sens du règlement (CE) n° 1272/2008

Catégorie	Code H
Sensibilisation cutanée, catégorie 1	H317 : Peut provoquer une allergie cutanée
EUH208 : Contient de la 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one. Peut produire une réaction allergique Pour les phrases P se référer à la réglementation en vigueur	

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.

Port de gants et vêtement de protection appropriés.

V. Données identifiées comme manquantes

Rapports complets de l'ensemble des essais d'efficacité menés en conditions contrôlées et en conditions d'emploi préconisées (pour les essais européens hors France), accompagnés des données brutes et précisant la méthode d'analyse statistique appliquée.

Concernant plus spécifiquement l'analyse du regroupement des essais français proposée, une nouvelle analyse statistique prenant en compte la variabilité résiduelle intra-essai.

ANNEXE 1

Caractéristiques revendiquées par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit B-360

Paramètres déclarables	Teneurs garanties selon la déclaration du demandeur (sur produit brut)
Matières sèche	0,24 %
Lipo-chitooligosaccharide SP104	1.10 ⁻⁶ %

Usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché du produit B-360

(Formulaire cerfa n° 11385 du 28/09/2017)

Culture	Dose par apport (mL/kg de semences)	Nombre d'apport par an	Epoque d'apport
Maïs	0,33	1	Au semis