

Maisons-Alfort, le 24/10/2017

Conclusions de l'évaluation **relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché** **pour le produit CARPOES, de la société BIOVITIS S.A.**

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 BIOVITIS S.A. pour le produit CARPOES.

CARPOES est une préparation fongique obtenue à partir de *Trichoderma harzianum* souche B97-M-04.08.

Les effets revendiqués par le demandeur concernent la stimulation de la croissance des plantes (biomasse végétale), l'amélioration de l'implantation des cultures, la meilleure assimilation du phosphore par la plante et l'amélioration de la résistance des cultures au stress abiotique.

Le produit CARPOES se présente sous forme solide (poudre mouillable) et est proposé pour une utilisation en pulvérisation après dilution dans l'eau.

Les caractéristiques garanties ainsi que les usages revendiqués par le demandeur pour le produit CARPOES, 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 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.

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.

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 10 octobre 2017, 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 CARPOES, 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 CARPOES repose sur la culture du micro-organisme puis l'ajout du support de formulation. Chaque lot de production du produit CARPOES correspond à 120 kg, conditionnés dans des pots de 1 kg de produit fini.

La souche B 97 M-04.08 de *Trichoderma harzianum* est une souche naturelle (non génétiquement modifiée) isolée par BIOVITIS, à partir d'un sol français. Elle est enregistrée sous le code interne Biovitis n° B97-M-04.08 et déposée sous le numéro CNCM I-4013 dans la Collection Nationale de Cultures de Micro-organismes (CNCM, Institut Pasteur, Paris, France).

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. Ainsi, chaque lot est vérifié, notamment pour s'assurer de sa conformité aux spécifications microbiologiques (teneur minimale en *Trichoderma harzianum*) et de l'absence de contaminants et d'éléments traces métalliques (ETM). La gestion des non-conformités est considérée 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.

Le procédé de fabrication ne conduit pas à identifier de dangers éventuels autres que ceux inhérents aux matières premières utilisées.

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. La plupart des analyses ont été effectuées par un laboratoire accrédité par le COFRAC³ sur le programme 108 ou par un organisme reconnu équivalent ISO 17025 : 2005. Le dénombrement de microorganismes constitutifs du produit CARPOES est effectué selon une méthode interne considérée comme acceptable.

La méthode de caractérisation du micro-organisme au niveau de la souche B 97 M-04.08 de *Trichoderma harzianum* (marqueurs SCAR⁴s) a été soumise et est considérée comme acceptable.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles⁵ près, la conformité de chaque unité de commercialisation du produit aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise, et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique.

³ COFRAC = Comité Français d'Accréditation

⁴ SCAR = Sequence Characterized Amplified Region

Constance de composition

La constance de composition du produit CARPOES (teneur minimale en *Trichoderma harzianum* souche B 97 M-04.08) est convenablement établie pour l'homogénéité et l'invariance.

L'étude de stabilité permet de s'assurer que le produit CARPOES est stable sur une période de conservation maximale de 15 mois à 20°C.

La fiche d'information du produit indique une durée limite d'utilisation de 15 mois (à partir de la date de production) pour un stockage dans un endroit sec, à l'abri de la lumière du soleil et à une température inférieure à 30°C. Toutefois, les données disponibles ne permettent de s'assurer de la stabilité du produit que sur une période de conservation maximale de 15 mois à 20°C.

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

Profil toxicologique

Aucune des matières premières du produit CARPOES n'est considérée comme une substance dangereuse au sens du règlement (CE) n° 1272/2008⁶.

Le genre *Trichoderma* n'appartient 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 *Trichoderma harzianum* ont été observées chez des individus immunodéprimés.

Les données disponibles sur cette souche indiquent qu'elle n'est pas toxique, pathogène, infectieuse ou capable de proliférer.

Analyses réglementaires

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

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

Les analyses microbiologiques ont été effectuées sur 3 échantillons issus de 3 lots différents. Ces analyses montrent que le produit CARPOES respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques de référence⁶ au regard des usages revendiqués (grandes cultures). La quantité de micro-organismes totaux, levures et moisissures est élevée mais cohérente par rapport à la nature fongique du produit CARPOES.

Etudes toxicologiques, autres analyses

Des essais de toxicologie réalisés sur une suspension mère pure de la souche *B97-M04-08* de *Trichoderma harzianum* ne montrent aucune toxicité aiguë orale ou pulmonaire.

Les analyses granulométriques montrent qu'un peu moins de 40 % des poussières passent le tamis de 63 µm. Aucune détermination de la teneur en poussières inférieures à 10 µm n'a été soumise. Considérant que le produit contient des microorganismes pouvant être sensibilisants, le port d'un équipement individuel de protection (masque) est obligatoire. Aucune analyse granulométrique des particules inférieures à 10 µm n'a donc été jugée nécessaire.

⁵ Arrêté du 7 juillet 2005 relatif aux écarts admissibles en ce qui concerne les matières fertilisantes et les supports de culture

⁶ 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.

⁷ Tels que définis à l'Annexe VII du formulaire cerfa n° 50644#01 'Guide pour la constitution des dossiers de demande d'homologation Matières fertilisantes - Supports de culture'

⁸ PCB = polychlorobiphényle

Classement et conditions d'emploi proposés

La classification toxicologique du produit CARPOES, déterminée au regard des résultats expérimentaux, 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.

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

Enfin, considérant l'ensemble des informations disponibles, des gants, un vêtement de protection approprié, ainsi qu'un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3 devront être portés pendant toutes les phases du traitement.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

En l'absence de données spécifiques sur la nature et la toxicité des métabolites secondaires potentiellement produits par la souche de *Trichoderma harzianum* composant le produit CARPOES, le risque pour le consommateur, lié à une potentielle contamination des parties consommables par ces métabolites, ne peut être évalué. Les cultures dont les parties consommables sont en contact direct avec le sol (betterave) doivent donc exclues.

Pour les autres cultures revendiquées et destinées à la consommation (blé, orge et maïs), le produit étant appliqué au moment des semis, une contamination des parties consommables par ces métabolites est considérée comme négligeable. Par conséquent, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur lié à l'utilisation de CARPOES sur les cultures de blé, orge et maïs dans les conditions d'emploi préconisées.

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

Une analyse bibliographique non exhaustive sur l'occurrence naturelle des microorganismes entrant dans la composition du produit CARPOES montre que la souche de *Trichoderma harzianum* (souche B97-M-04.08) est naturellement présente 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. Sur la base des informations disponibles dans le dossier du demandeur, l'apport en *Trichoderma harzianum* via l'utilisation du produit CARPOES est inférieur au niveau d'occurrence naturelle dans les sols.

En conséquence, compte tenu de la nature des matières premières, aucun impact sur le milieu naturel lié à l'utilisation du produit CARPOES n'est attendu.

Classement proposé

La classification du produit CARPOES vis-à-vis de l'environnement, 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 : sans classement

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

Les effets revendiqués pour le produit CARPOES concernent la stimulation de la croissance des plantes (biomasse végétale), l'amélioration de l'implantation des cultures, la meilleure assimilation du phosphore par la plante et l'amélioration de la résistance des cultures au stress abiotique (formulaire cerfa n° 11385 du 19/04/2017).

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

Les revendications du produit sont basées sur la nature de ses éléments de composition : *Trichoderma harzianum* (souche B97-M-04.08).

Le mode d'action proposé par le demandeur repose sur les données de la littérature scientifique décrites dans 15 publications.

D'après cette littérature, les *Trichoderma spp.* sont capables de produire des acides organiques tels que les acides glucuronique, citrique ou fumarique qui acidifient le sol, favorisant ainsi la solubilisation des phosphates, de certains micronutriments et de cations comme le fer, le manganèse et le magnésium indispensables aux plantes. *Trichoderma harzianum* produit par ailleurs différents métabolites secondaires susceptibles d'agir comme des hormones de croissance, tels que le 6-pentyl- α -pyrone et l'acide harzianique. Les *Trichoderma spp.* produisent également diverses enzymes : xylanases, cellulases, glucanase et hemicellulases grâce auxquelles ils dégradent des matières organiques plus ou moins complexes comme les pailles. Enfin, *Trichoderma harzianum* est apte à coloniser la surface racinaire des plantes, ce qui lui confère un avantage compétitif et peut s'avérer bénéfique en cas de sécheresse.

Essais d'efficacité

Le demandeur présente, à l'appui des revendications, 3 essais d'efficacité en conditions contrôlées et 1 essai dans les conditions d'emploi préconisées.

Essais en conditions contrôlées

Le premier essai a été réalisé sous serre sur semis de blé. Les résultats de cet essai montrent un effet positif significatif de l'apport au sol du produit CARPOES sur la biomasse aérienne sèche, à la dose revendiquée de 0,5 kg/ha ou par trempage des semences à la dose de $2,3 \cdot 10^4$ ufc de semences.

Le 2^e essai a été réalisé sous serre sur semences de maïs en conditions de stress hydrique. Les résultats de cet essai ne montrent aucun effet significatif de l'apport du produit CARPOES en traitement de semences à la dose de $4 \cdot 10^5$ ufc/g de semences (soit une dose de $1 \cdot 10^{10}$ ufc/ha, similaire à celle revendiquée), sur la biomasse racinaire sèche par rapport au témoin non traité, que ce soit en conditions de stress hydrique ou non.

Le 3^e essai a été réalisé en laboratoire sur ray-grass. Les résultats montrent que l'apport du produit CARPOES au sol à la dose de $1 \cdot 10^6$ spores/g de sol (soit 1×10^{14} ufc/ha) associé à un phosphate tricalcique a un effet positif significatif sur la teneur en phosphore des parties aériennes par rapport au phosphate tricalcique seul. Les résultats ne permettent pas, cependant, de montrer un effet de CARPOES sur l'exportation de phosphore et donc de démontrer l'effet revendiqué relatif à une meilleure assimilation du phosphore par la plante.

Essais en conditions d'emploi préconisées

1 essai sur betteraves au champ a été soumis. Les résultats de cet essai montrent un effet positif significatif de l'apport du produit CARPOES au semis à la dose revendiquée de 0,5 kg/ha, sur le nombre de betteraves récoltées et sur le rendement par rapport au témoin non traité.

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi proposé n'est pas adapté aux revendications d'efficacité. En effet, les cultures revendiquées ne sont pas précisées.

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

Considérant l'ensemble des données d'efficacité disponibles (essais en conditions contrôlées), seule la revendication relative à la stimulation de la croissance des plantes (biomasse végétale) peut être considérée comme soutenue pour les céréales à paille. Il conviendra en post-autorisation de confirmer l'efficacité du produit CARPOES en conditions réelles d'utilisation (champ).

Aucun essai ou résultat d'essai ne permet de soutenir les effets revendiqués d'amélioration de la résistance des cultures au stress abiotique, d'amélioration de l'implantation des cultures et de meilleure assimilation du phosphore par la plante.

Bien que non revendiqué, un effet sur le rendement dans les conditions d'emploi préconisées a également été mis en évidence sur betterave.

La dénomination de classe et de type proposée est « Préparation fongique » - « Inoculum (poudre) de *Trichoderma harzianum* souche B97-M-04.08 ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique ne devra être faite sur les supports d'information et de communication.

SYNTHESE DES RESULTATS DE L'EVALUATION

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

- A.** La caractérisation et la constance de composition (homogénéité et invariance) du produit CARPOES sont établies de manière satisfaisante pour les paramètres de marquage obligatoire.

L'étude de stabilité montre que le produit est stable par rapport aux éléments de marquage obligatoire, pendant 15 mois de stockage dans un endroit sec, à l'abri de la lumière directe du soleil et à une température inférieure à 20°C.

- B.** Dans le cadre des usages demandés, l'innocuité du produit CARPOES est considérée comme conforme aux dispositions réglementaires pour les contaminants chimiques recherchés et pour lesquels il existe une valeur de référence.

Aucun effet néfaste n'est attendu sur le milieu naturel dans les conditions d'emploi retenues ci-dessous. Aucun effet néfaste pour l'homme n'est, par ailleurs, attendu dans ces mêmes conditions d'emploi.

- C.** Considérant l'ensemble des données d'efficacité disponibles (essais en conditions contrôlées), seule la revendication relative à la stimulation de la croissance des plantes (biomasse végétale) peut être considérée comme soutenue pour les céréales à paille. Il conviendra, en post-autorisation, de confirmer l'efficacité du produit CARPOES en conditions réelles d'utilisation (champ).

Aucun essai ou résultat d'essai ne permet de soutenir les effets revendiqués d'amélioration de la résistance des cultures au stress abiotique, d'amélioration de l'implantation des cultures et de meilleure assimilation du phosphore par la plante.

La dénomination de classe et de type proposée est « Préparation fongique » - « Inoculum (poudre) de *Trichoderma harzianum* souche B97-M-04.08 ».

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique ne devra 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. Résultats de l'évaluation pour les usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante CARPOES

Cultures	Doses par apport (en kg/ha)	Nombre d'apports par an	Volume de dilution (en litres)	Concentration de pulvérisation (kg pour 100 L)	Epoques d'apport	Conclusion
Céréales à paille	0,5 à 1	1	100 à 200	0,5 à 1	Semis	Conforme
Mais	0,5 à 1	1	100 à 200	0,5 à 1	Semis	Non finalisé (Efficacité non démontrée)
Betterave	0,5 à 1	1	100 à 200	0,5 à 1	Semis	Non finalisé (Exposition du consommateur et efficacité non démontrée)

Par ailleurs, aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique ne devra 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 CARPOES

Paramètres déclarables retenus	Teneurs garanties retenues (sur produit brut)
<i>Trichoderma harzianum</i> souche B97-M-04.08	0,5 % soit 5.10^7 ufc/g

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

Sans classement

IV. Conditions d'emploi

Le produit CARPOES ne doit pas être utilisé par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.

Contient *Trichoderma harzianum*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation.

Port de gants et d'un vêtement de protection appropriés, ainsi qu'un demi-masque filtrant anti-aérosols certifié (EN 149) de classe FFP3 pendant toutes les phases du traitement.

V. Données post-autorisation

Les compléments d'information et suivi de production suivants devront être apportés au plus tard 9 mois⁹ avant l'échéance de l'autorisation de mise sur le marché, sauf indications contraires précisées ci-dessous :

Type	Compléments et suivis post-homologation requis
Analyses	<p>Effectuer au moins tous les six mois, sur des échantillons représentatifs du résidu de digestion tel qu'il est mis sur le marché, des analyses portant au moins sur les paramètres déclarables figurant sur l'étiquetage : teneur en <i>Trichoderma harzianum</i> souche B97-M-04.08.</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>
Efficacité	<p>Dans un délai de 2 ans</p> <p>Fournir de nouveaux essais d'efficacité en conditions réelles d'utilisation permettant de démontrer spécifiquement le (les) effet(s) considéré(s) soutenu(s). Les paramètres biologiques mesurés doivent être retenus de manière pertinente au regard des effets revendiqués. Par ailleurs, les essais devront porter sur une ou plusieurs cultures considérée(s) représentative(s) de la (de l'ensemble des) culture(s) autorisée(s). Les rapports complets des essais, accompagnés des données brutes et d'une analyse statistique des résultats, devront être communiqués.</p>

Mots-clés : CARPOES – préparation fongique - *Trichoderma harzianum* souche B97-M-04.08 – blé – orge – maïs – betterave - FSIM

⁹ Conformément au code rural et de la pêche maritime.

Annexe 1

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

Paramètre déclarable Revendiqué	Teneur garantie revendiquée (% sur produit brut)
<i>Trichoderma harzianum</i> souche B97-M-04.08	0,5 % soit 5.10^7 ufc/g

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

(Formulaire cerfa n° 11385 du 19/04/2017)

Cultures	Doses par apport (en kg.ha⁻¹)	Nombre d'apports par an	Volume de dilution (en litres)	Concentration de pulvérisation (kg pour 100 L)	Epoques d'apport
Céréales (blé et orge)	0,5 à 1	1	100 à 200	0,5 à 1	Semis
Grandes cultures (maïs et betteraves)	0,5 à 1	1	100 à 200	0,5 à 1	semis