

Maisons-Alfort, le 15 mars 2016

Conclusions de l'évaluation

relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L de la société PREMIER TECH BIOTECHNOLOGIES

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

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

Le présent document ne constitue pas une décision.

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Anses a accusé réception d'une demande d'autorisation de mise sur le marché pour la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L de la société PREMIER TECH BIOTECHNOLOGIES.

La matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L est obtenue à partir d'un champignon endomycorhizien appartenant à l'espèce *Glomus intraradices* (synonymes *Rhizophagus irregularis* ou *Glomus irregulare*) souche Pont Rouge (DAOM 181602).

Cette préparation fongique est destinée à développer le chevelu racinaire et la capacité d'absorption, à augmenter la résistance aux stress abiotiques, à développer la vigueur végétative et à augmenter la productivité.

La matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L se présente sous forme d'une suspension à diluer avant utilisation et est proposée pour une utilisation en pulvérisation dans la raie de plantation ou en humectant les plants avant plantation.

Les caractéristiques garanties ainsi que l'usage revendiqué par le pétitionnaire pour la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L 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 pétitionnaires concernant l'homologation des MFSC².

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 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.

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 9 février 2015, la Direction d'évaluation des produits règlementés émet les conclusions suivantes.

CONCLUSIONS RELATIVES A LA CARACTERISATION DE LA MATIERE FERTILISANTE ET A LA QUALITE DE LA PRODUCTION

Caractérisation et procédé de fabrication

Les spécifications de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L telles que décrites sur le formulaire Cerfa 11385 et la fiche d'information sont conformes aux dispositions réglementaires.

La matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L est obtenue par inoculation de spores de *Glomus intraradices* sur des racines de carottes en conditions aseptiques et sur milieux de cultures appropriées. Ces spores sont ensuite récupérées et mises en suspension dans de l'eau distillée stérile. La souche de *Glomus intraradices* considérée est une souche non génétiquement modifiée, isolée à partir de frêne blanc (*Fraxinum americana*), à Pont Rouge (Québec). Cette souche a été sélectionnée comme modèle des champignons mycorhiziens à arbuscules et est enregistrée sous le n° DAOM³ 181602 à l'Herbarium Mycologique National au Biosystematics Research Center à Ottawa. La souche fongique est également référencée MUCL43194 dans la mycothèque de Louvain (Louvain, 2012).

Chaque lot de production de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L correspond à 190 L, répartis en 200 bouteilles de 950 mL (volume net), soit 950 g (poids net).

Le système de management de la qualité de la fabrication et de la traçabilité des matières premières et des lots de production est décrit de manière complète et considéré comme satisfaisant. La gestion des non-conformités est pertinente.

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

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

Constance de composition

La constance de composition de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L (relative à la richesse en spores) est convenablement établie pour l'invariance.

Compte tenu de la nature de la matière fertilisante (suspension liquide), il conviendra de préciser sur l'étiquette « agiter énergiquement le produit avant emploi et pendant l'application conformément aux recommandations pour les bonnes pratiques agricoles ».

Les données de l'étude de stabilité montrent que la matière fertilisante est stable dans son emballage d'origine sur une durée de 7 mois en chambre froide.

⁴ COFRAC = Comité Français d'Accréditation

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.

L'analyse de caractérisation physico-chimique a été effectuée par un laboratoire accrédité par le COFRAC⁴ sur le programme 108.

Le micro-organisme constituant la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L a été identifié au regard de ses caractéristiques morphologiques selon la méthode présentée par Schenck et Smith⁵. Cette méthode n'étant pas considérée comme assez spécifique pour caractériser ce champignon au niveau de la souche, il conviendra de fournir en post-autorisation une méthode génétique permettant une identification de *Glomus intraradices* au niveau de la souche dans la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L.

La méthode de dénombrement est effectuée par une coloration au MTT (bromure de diméthylthiazol-diphenyl-tetrazolium) selon An et Hendrix⁶ et est considérée comme acceptable.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles près, la conformité de chaque unité de commercialisation de la préparation aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise, et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique. Les lots non-conformes sur ces critères devront être déclassés selon la procédure prévue par le pétitionnaire.

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

Le genre *Glomus* n'est pas inscrit à l'annexe III de la directive 2000/54/CE du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail.

Par ailleurs, le *Glomus* est symbiote strict, incapable de se développer sans établir de symbiose avec les racines d'une plante ce qui rend son infectiosité improbable chez l'homme. De plus, la littérature ne mentionne pas de cas de toxicité et/ou de pathogénicité pour le genre *Glomus*. Enfin aucune toxine n'est associée au *Glomus* dans la littérature. Une publication sur l'étude du génome complet de *glomus intraradices* rapporte une absence d'enzymes clés impliqués dans la biosynthèse de toxines fongiques ou de gènes impliqués dans la dégradation des parois cellulaires.

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) permettent de respecter les critères d'innocuité⁷ pour la 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 effectuées ne sont pas conformes aux dispositions réglementaires. En effet les *Listeria monocytogenes*, les nématodes et les *Aspergillus* n'ont pas été recherchés. Néanmoins, les résultats de ces analyses montrent que les valeurs de référence microbiologiques⁷ sont respectées pour les micro-organismes analysés.

⁴ COFRAC = Comité Français d'Accréditation

⁵ Schenck, N. C. and G. S. Smith. 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. Mycologia 74 : 77-92

⁶ An, Z.-Q. et J. W. Hendrix. 1988. Determining viability of endogonaceous spores with a vital stain. Mycologia 80 : 259-261

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

Au regard du procédé de fabrication, ainsi que de l'ensemble des résultats microbiologiques disponibles, il n'est pas attendu de risque de contamination de la matière fertilisante. Il conviendra toutefois de fournir en post-autorisation des analyses microbiologiques incluant l'ensemble des micro-organismes requis par la réglementation en vigueur.

Aucune étude toxicologique n'a été réalisée sur la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L.

La classification toxicologique de la matière fertilisante, déterminée par calcul au regard de la classification de la matière première ainsi que de sa 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 micro-organismes, la phrase de précaution « Contient *Glomus intraradices*. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation » devra être mentionnée sur l'étiquette.

Par ailleurs, des gants et un vêtement de protection appropriés, ainsi qu'un masque anti-aérosol (EN149 FFP3 ou équivalent), devront être portés par l'opérateur pendant toutes les phases du traitement.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

Compte tenu de la nature de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L et des usages revendiqués, il n'est pas attendu de risque pour le consommateur.

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

La classification de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L vis-à-vis de l'environnement, déterminée au regard de la classification des matières premières ainsi que de leur teneur dans le produit fini, est, au sens du règlement (CE) n° 1272/2008 : Sans classement.

Aucune donnée écotoxicologique expérimentale relative à la toxicité vis-à-vis des organismes terrestres et aquatiques de *Glomus intraradices* ou de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L n'a été communiquée. De plus, aucune information sur la persistance de cette souche dans l'eau n'a été soumise. Par ailleurs, la littérature ne mentionne aucun cas de toxicité et/ou de pathogénicité directe ou induite liée à *Glomus intraradices*.

Le pétitionnaire indique que *Glomus intraradices*, souche Pont Rouge DAOM181602, est naturellement présente dans les sols. Ce champignon mycorhizien est un symbiote obligatoire d'une grande variété de plantes, ne lui permettant donc de se développer que sur leurs racines. Par conséquent, la dissémination dans l'environnement de ces champignons endomycorhizogènes est considérée comme faible et aucun effet néfaste pour l'environnement n'est donc attendu.

CONCLUSIONS RELATIVES A L'EFFICACITE DE LA MATIERE FERTILISANTE

Caractéristiques biologiques

Effets revendiqués

Les effets revendiqués par le pétitionnaire concernent le développement du chevelu racinaire et de la capacité d'absorption, l'augmentation de la résistance aux stress abiotiques, le développement de la vigueur végétative et l'augmentation de la productivité (formulaire cerfa n° 11385 du 07/11/2014).

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

Les revendications de la matière fertilisante sont basées sur la présence de spores de *Glomus intraradices* souche Pont Rouge (DAOM 181602).

Aucune information sur le mode d'action n'a été soumise. Toutefois, *Glomus intraradices* est un champignon à mycorhizes connu qui établit une relation symbiotique avec les racines des plantes. L'existence de la symbiose est gouvernée par des échanges nutritionnels entre l'hôte, apportant des sucres, et le champignon, fournissant des minéraux peu mobiles tels que le phosphore. Ces échanges ont lieu essentiellement dans les arbuscules et au niveau de la membrane plasmique de certaines cellules corticales de l'hôte. Le champignon stocke le phosphore dans ses vacuoles sous forme de granules de polyphosphates. La présence du *Glomus* dans les racines stimule également l'absorption des oligoéléments et de l'eau.

Essais d'efficacité

Le pétitionnaire présente 6 essais d'efficacité au champ, réalisés dans l'est du Canada entre 2010 et 2012. Les doses testées dans ces essais sont légèrement inférieures à la dose revendiquée ($1,5 \cdot 10^6$ spores par ha dans 5 essais et $1,8 \cdot 10^6$ spores par ha dans 1 essai).

Dans 3 essais, MYKE PRO POMME DE TERRE L est comparé à un témoin non inoculé. Une augmentation significative du rendement total et du rendement commercialisable est observée dans 2 essais.

Dans 2 essais, MYKE PRO POMME DE TERRE L est testé avec ou sans apport de phosphore. Une augmentation du rendement total et du rendement commercialisable est observée dans les 2 essais. Toutefois, cette augmentation est significative dans un seul essai, dans le cas où MYKE PRO POMME DE TERRE L est associé à un apport élevé de fertilisation phosphatée.

Dans 1 essai, MYKE PRO POMME DE TERRE L est testé avec différents apports de potassium. Une augmentation significative du rendement commercialisable et du poids moyen par pomme de terre est observée, l'augmentation de la dose d'apport en potassium étant sans effet sur le rendement.

Les résultats de ces essais montrent, qu'en application dans le sillon de plantation des plants de pomme de terre ou par humectage des plants avant plantation, l'apport de la préparation fongique MYKE PRO POMME DE TERRE L à des doses comprises entre $1,5 \cdot 10^6$ et $1,8 \cdot 10^6$ spores par ha permet une augmentation du rendement brut et commercialisable de la pomme de terre.

Conclusions sur le mode d'emploi

Le mode d'emploi préconisé est suffisant pour permettre une bonne utilisation de la matière fertilisante.

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

Seule la revendication relative à l'augmentation de la productivité (rendement) peut être considérée comme soutenue.

Les revendications concernant le développement du chevelu racinaire, le développement de la capacité d'absorption, l'augmentation de la résistance aux stress abiotiques, le développement de la vigueur végétative ne sont pas étayées et ne peuvent pas être retenues.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation fongique en suspension » - « Inoculum de *Glomus intraradices* souche Pont Rouge (DAOM 181602) ».

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 de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L devra être complétée par une identification génétique spécifique de *Glomus intraradices* au niveau de la souche (DAOM 181602).

La constance de composition de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L est établie de manière satisfaisante. Au regard des données de l'étude de stabilité, la durée de stockage ne devra pas excéder 7 mois dans son emballage d'origine en chambre froide. Il conviendra donc de respecter la chaîne du froid pour assurer la qualité de conservation de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L.

- B.** Dans le cadre des usages demandés, l'innocuité de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L est considérée comme conforme aux dispositions réglementaires pour les contaminants chimiques et biologiques analysés et pour lesquels il existe une valeur de référence. Des analyses microbiologiques complémentaires sont toutefois requises.

- C.** Les données d'efficacité disponibles montrent que seul l'effet relatif à l'augmentation de la productivité (rendement) peut être considéré comme soutenu pour l'usage revendiqué.

La dénomination de classe et de type proposée est : « Préparation fongique en suspension » - « Inoculum de *Glomus intraradices* souche Pont Rouge (DAOM 181602) ».

Par ailleurs, 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.

CONCLUSIONS

La conformité ou l'absence de conformité aux dispositions réglementaires nationales, dans les conditions d'étiquetage et d'emploi décrites aux points II et IV et des compléments d'information et suivis de production listés au point V, est précisée ci-dessous.

I. Résultats de l'évaluation pour les usages revendiqués par le demandeur pour une autorisation de mise sur le marché de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L

Culture	Dose par apport (en mL.ha ⁻¹ ou g inoculum.ha ⁻¹)*	Nombre de spores par hectare	Nombre d'apport par an	Epoque d'apport	Conclusion (commentaires)
Pomme de terre	237,5	2,49.10 ⁶	1	Plantation en raie de plantation	Conforme

* Densité : 1 g.mL⁻¹

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 de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L

Paramètres déclarables	Teneur minimale garantie retenue
<i>Glomus intraradices</i> souche Pont rouge (DAOM 181602).	10 500 spores.mL ⁻¹
Masse volumique	1 g.mL ⁻¹

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

Sans classement

IV. Conditions d'emploi

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

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

Agiter énergiquement le produit avant emploi et pendant l'application conformément aux recommandations pour les bonnes pratiques agricoles.

Respecter la chaîne du froid pour assurer la qualité de conservation de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L.

V. Données post-autorisation

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

Type	Compléments et suivis post-autorisation requis
Analyses	<p>Effectuer au moins tous les six mois, sur des échantillons représentatifs de la matière fertilisante telle qu'elle est mise sur le marché, des analyses portant au moins sur :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les éléments figurant sur l'étiquetage : dénombrement de <i>Glomus intraradices</i> souche Pont Rouge (DAOM 181602) ; - les microorganismes totaux, Entérocoques, <i>Escherichia coli</i>, <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, Nématodes, Levures et moisissures, <i>Aspergillus</i>, <i>Ralstonia solanacearum</i>. <p><u>Dans un délai de 6 mois :</u> Fournir une méthode génétique plus spécifique permettant une identification dans la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L de <i>Glomus intraradices</i> au niveau de la souche DAOM 181602.</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>

Mots-clés : MYKE PRO POMME DE TERRE L - *Glomus intraradices* souche Pont Rouge (DAOM 181602) - pomme de terre - suspension - FSIM

⁹ Conformément au code rural et de la pêche maritime.

Annexe 1

**Caractéristiques revendiquées pour une autorisation de mise sur le marché de la matière
fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L**

Caractéristiques	Teneurs garanties revendiquées
<i>Glomus intraradices</i> souche Pont Rouge (DAOM 181602)	10 500 spores.mL ⁻¹
Masse volumique	1 g.mL ⁻¹

**Usage revendiqué pour une autorisation de mise sur le marché
de la matière fertilisante MYKE PRO POMME DE TERRE L**

Culture	Dose par apport (en mL.ha ⁻¹ ou g inoculum.ha ⁻¹)*	Nombre de spores par hectare	Nombre d'apport par an	Epoque d'apport
Pomme de terre	237,5	2,49.10 ⁶	1	Plantation en raie de plantation

*Densité : 1 g.mL⁻¹