



anses

Anses – Dossier n° 2021- 0300- RHIZOCELL

Maisons-Alfort, le 23/06/2022

Conclusions de l'évaluation relatives à la demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché de la société LALLEMAND S.A.S pour le produit RHIZOCELL

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 de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) de la société LALLEMAND S.A.S pour le produit RHIZOCELL (AMM n° 1110014).

RHIZOCELL est une poudre à base de levures inactivées (*Saccharomyces cerevisiae*) et de *Bacillus amyloliquefaciens* souche IT45.

Les effets revendiqués par le demandeur dans le cadre de cette demande de renouvellement d'AMM pour le produit RHIZOCELL, concernent la solubilisation du phosphore, l'amélioration de l'implantation des cultures et l'amélioration de la fertilité des sols.

Les caractéristiques garanties et les usages revendiqués par le demandeur pour le produit RHIZOCELL 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 le guide relatif à l'évaluation des dossiers de demande relative à une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou à un permis pour des matières fertilisantes, des adjuvants pour matières fertilisantes et des supports de culture, mentionné à l'article 2 de l'arrêté du 1^{er} avril 2020².

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 l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

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 Arrêté du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjuvants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation

SYNTHESE DE L'EVALUATION

L'innocuité pour l'homme et l'environnement, liée à l'utilisation de RHIZOCELL a été précédemment évaluée par l'Agence³. Les demandes relatives aux suivi post-autorisation ont été reçus et évalués.

Dans le cadre de cette demande de renouvellement d'AMM, seules les nouvelles données disponibles ont été évaluées et sont présentées. La conformité à l'annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020 a également été vérifiée.

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

Le suivi semestriel des paramètres déclarables, requis en post-autorisation lors du dernier renouvellement d'AMM ont été soumis.

Constance de composition

L'ensemble des analyses soumises dans le cadre du suivi post-AMM montrent que la constance de composition du produit relative aux éléments de marquage obligatoire reste convenablement établie pour l'homogénéité et l'invariance.

Ces analyses montrent également, que le produit RHIZOCELL conservé à température ambiante dans l'emballage commercial envisagé (sachets plastique en PET⁴/PE⁵) reste stable 24 mois par rapport à la teneur en *Bacillus amyloliquefaciens* souche IT45.

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

Méthode d'analyse

Les méthodes d'analyses mises en œuvre pour la caractérisation de la souche IT45 de *Bacillus amyloliquefaciens* ont été soumises et sont considérées acceptables. Les analyses moléculaires réalisées (marqueurs SCAR, RAPD-PCR) pour l'identification et la caractérisation de ce microorganisme sont décrites et permettent de l'identifier au niveau de la souche.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX PROPRIETES TOXICOLOGIQUES

Conformité aux exigences de l'annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020

Eléments traces métalliques (ETM)

Les teneurs en As, Cd, Cr total, Hg, Ni, Pb, Cu et Zn (mesurées dans 1 lot) respectent les teneurs maximales pour les matières fertilisantes définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020⁶.

Aucune analyse pour le Cr VI n'a été soumise. Toutefois compte tenu de la teneur en Cr total (< 2 mg/kg de matière sèche), il n'est pas attendu de dépassement de la teneur maximale pour le chrome VI définie en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

L'Analyse soumise montre que la teneur en composés traces organiques (somme de 16 HAP) respecte la teneur maximale pour les matières fertilisantes définie en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020.

³ Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'homologation de la matière fertilisante RHIZOCELL, à base de levures inactivées *Saccharomyces cerevisiae* et d'une souche de bactérie *Bacillus amyloliquefaciens*, de la société ITHEC du 28 décembre 2011 (dossier Anses 2011-9025).

⁴ Polyéthylène téréphthalate

⁵ Polyéthylène

⁶ Arrêté du 1^{er} avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjutants pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation

Microbiologie

Les résultats des analyses soumises montrent que le produit respecte l'ensemble des valeurs microbiologiques définies en annexe de l'arrêté du 1^{er} avril 2020 avant et après stockage de 2 mois.

Antibiogramme

L'antibiogrammes soumis montrent que la souche IT45 de *Bacillus amyloliquefaciens*, composant le produit RHIZOCELL est sensible à des antibiotiques.

Flux en ETM et HAP

Les teneurs en ETM et HAP permettent de respecter les flux⁷ définis pour la mise sur le marché des matières fertilisantes dans les conditions d'emploi revendiquées.

Classement et conditions d'emploi proposés

La classification toxicologique du produit RHIZOCELL, déterminée par calcul 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**.

Néanmoins, en raison des effets potentiellement sensibilisant des microorganismes, il conviendra de mentionner sur l'étiquette de la matière fertilisante, la phrase suivante : « Contient *Bacillus amyloliquefaciens* et des extraits de levure. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation ».

Par ailleurs, considérant l'ensemble des informations disponibles et la nature du produit, 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.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

La production de métabolites secondaires potentiellement toxiques par *Bacillus amyloliquefaciens* IT45 ne pouvant être exclue, l'exposition du consommateur ne peut être estimée pour les cultures dont les parties consommables sont en contact avec le sol. Par conséquent, il est recommandé de ne pas appliquer le produit RHIZOCELL sur les cultures dont les parties consommables peuvent entrer en contact avec le sol.

Par ailleurs, compte tenu des modes d'apport revendiqués il n'est pas attendu de risque pour le consommateur pour les cultures dont les parties consommables ne sont pas en contact avec le sol.

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

Aucun essai d'écotoxicité ou tests d'impact vis-à-vis des organismes aquatiques ou terrestres avec le produit RHIZOCELL n'a été fourni dans le cadre de ce renouvellement.

Toutefois, compte tenu de la nature des constituants du produit RHIZOCELL et des informations disponibles, il n'est pas attendu d'effets néfastes sur l'environnement dans les conditions d'emploi revendiquées.

Par ailleurs, au vu des flux d'azote et de phosphore, il n'est pas attendu de risque lié à l'eutrophisation des milieux aquatiques.

⁷ Guide relatif à l'évaluation des dossiers de demande relative à une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou à un permis pour des matières fertilisantes, des adjoints pour matières fertilisantes et des supports de culture» mentionné à l'article 2 du 1er avril 2020 fixant la composition des dossiers de demandes relatives à des autorisations de mise sur le marché et permis de matières fertilisantes, d'adjoints pour matières fertilisantes et de supports de culture et les critères à prendre en compte dans la préparation des éléments requis pour l'évaluation.

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

CONCLUSIONS RELATIVES A L'EFFICACITE

Effets revendiqués

Les effets revendiqués par le demandeur dans le cadre de cette demande de renouvellement d'AMM pour le produit RHIZOCELL concernent la solubilisation du phosphore, l'amélioration de l'implantation des cultures et l'amélioration de la fertilité des sols.

L'étude bibliographique soumise montre que le produit permettrait, par l'action des levures inactivées *Saccharomyces cervisiae*, de contribuer à l'activation des populations microbiennes des sols. De plus, le *Bacillus amyloliquefaciens* stimulerait la croissance racinaire et permettrait une meilleure solubilisation du phosphore contenu dans le sol.

Essais d'efficacité

Le pétitionnaire présente, à l'appui des revendications, une synthèse contenant une partie des essais déjà présentés lors des évaluations précédentes (2 essais menés sur salades (jeunes pousses de mesclun), 3 essais menés sur Pélargonium, 1 essai sur la solubilisation du phosphore et 1 essai sur l'activité nitrifiante. Ces essais ont été complétés par la soumission de 5 essais nouveaux menés sur pomme de terre et d'un nouvel essai mené sur la biodisponibilité du phosphore.

Pomme de terre

Les 5 essais conduits sur pomme de terre ont été menés dans les conditions d'emploi revendiquées. Toutefois, les données brutes, ainsi que les analyses statistiques, ne sont pas fournies dans ces essais. Ces essais ne peuvent donc être considérés.

Biodisponibilité du phosphore

En l'absence de données brutes et de vérification des conditions d'application de l'ANOVA, l'essai mené sur la solubilisation du phosphore ne peut être considéré comme valide

Revendications et dénomination de classe et de type

Considérant l'ensemble des données soumises, les seuls essais pouvant être considérés sont ceux ayant été précédemment évalués.

Les effets relatifs à la solubilisation du phosphore, à l'amélioration de l'implantation des cultures et à l'amélioration de la fertilité des sols revendiqués dans le cadre de cette demande de réexamen étant similaires à ceux déjà autorisés pour le produit RHIZOCELL, ces effets sont considérés soutenus sur la base des précédentes évaluations.

La dénomination de classe et de type proposée est : Matière fertilisante - Préparation microbienne à base de *Bacillus amyloliquefaciens*.

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 constance de composition (homogénéité et invariance) relative aux éléments de marquage obligatoire est convenablement pour les paramètres déclarables retenus suite à l'évaluation.

Les données soumises montrent que le produit RHIZOCELL conservé à température ambiante dans l'emballage commercial envisagé (sachets plastique en PET/PE) reste stable 24 mois par rapport à la teneur en *Bacillus amyloliquefaciens* souche IT45.

- B.** Dans le cadre des usages et des conditions d'emploi retenus suite à l'évaluation, le produit RHIZOCELL est considéré, pour les contaminants chimiques et biologiques pour lesquels il existe une valeur de référence, comme conforme aux dispositions réglementaires avant et après stockage de 2 mois à température ambiante dans l'emballage commercial envisagé (sachets plastique en PET/PE).

Considérant l'ensemble des éléments disponibles, aucun effet néfaste pour l'homme ou l'environnement lié à l'utilisation de RHIZOCELL n'est attendu dans les conditions d'emploi retenues suite à l'évaluation.

- C.** Considérant l'ensemble des données soumises, les seuls essais pouvant être considérés sont ceux ayant été précédemment évalués.

Les effets relatifs à la solubilisation du phosphore, à l'amélioration de l'implantation des cultures et à l'amélioration de la fertilité des sols revendiqués dans le cadre de cette demande de réexamen étant similaires à ceux déjà autorisés pour le produit RHIZOCELL, ces effets sont considérés soutenus sur la base des précédentes évaluations.

La dénomination de classe et de type proposée est : Matière fertilisante - Préparation microbienne à base de *Bacillus amyloliquefaciens*.

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 le renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché du produit RHIZOCELL

Cultures	Doses d'apport	Nombre maximal d'apports par an	Mode d'apport	Epoques d'apport	Conclusion (commentaires)
Cultures florales	0,05 g/cm (diamètre)	1	Trou de plantation	A la plantation (avant cycle de croissance végétative)	Conforme
	0,02 g/cm (diamètre)	12	Pots		Conforme
	0,02 g par alvéole	3	Caissette alvéolée		Conforme
Cultures maraîchères	1 kg/ha	6	Apport au sol	Au semis	Conforme
Mélange au substrats	400 g/m ³	12	-	-	Conforme

Cultures	Doses d'apport	Nombre maximal d'apports par an	Mode d'apport	Epoques d'apport	Conclusion (commentaires)
Grandes cultures	1 k/ha	2	Pulvérisation au sol	Au semis ou à la plantation, puis au début du cycle de croissance végétative	Conforme
Semences (cultures florales, cultures maraîchères et maïs)	1 kg/ha	1	Traitement de semences	Au semis	Conforme

II. Résultats de l'évaluation pour les éléments de marquage obligatoire et les teneurs garanties pour le renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché du produit RHIZOCELL

Paramètres déclarables	Teneurs garanties retenues (sur produit brut)
Matière sèche	96 %
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> souche IT45	Minimum 10 ⁹ UFC/g

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

Sans classement

L'étiquette devra porter la mention suivante :

« Contient *Bacillus amyloliquefaciens* et des extraits de levure. Les micro-organismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation ».

IV. Conditions d'emploi

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 de manipulation du produit et de traitement^{8 9}.

Ne pas appliquer le produit sur les cultures dont les parties consommables peuvent entrer en contact avec le sol.

Aucune mention relative à un effet phytopharmaceutique, ne devrait être faite sur le produit.

Durée maximale de stockage avant utilisation : 2 mois à température ambiante dans l'emballage commercial envisagé (sachets plastique en PET/PE).

⁸ Il est de la responsabilité du demandeur d'indiquer avec précision le type d'EPI (équipement de protection individuelle) en fonction des tâches à effectuer, ainsi que leur gestion (utilisation, nettoyage, stockage).

⁹ En ce qui concerne l'utilisation du produit par des utilisateurs non-professionnels, considérant l'absence d'information soumise, il n'est pas possible de s'assurer du port effectif et de la gestion des Equipements de Protection Individuelle (EPI) par les utilisateurs non-professionnels

V. Données post-autorisation

Dans le cadre d'une autorisation de mise sur le marché, les compléments d'information et de suivi de production suivants devront être tenus à disposition en vue d'éventuels contrôles et transmis à l'Anses au plus tard 9 mois¹⁰ avant l'échéance de l'autorisation de mise sur le marché, sauf indications contraires précisées ci-après :

Type	Compléments et suivis post-autorisation requis
Analyses	Effectuer, au moins tous les six mois, sur des échantillons représentatifs de la matière fertilisante telle qu'elle est mise sur le marché et selon les méthodes spécifiées ci-après, des analyses portant au moins sur les éléments figurant sur l'étiquetage : matière sèche, teneur en <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> souche IT45.
Analyses	<p>Les analyses doivent avoir été effectuées par un laboratoire accrédité selon la norme NF EN/ISO IEC 17025 par le Comité français d'accréditation (Cofrac), ou par tout autre organisme national d'accréditation exerçant son activité conformément au règlement CE n° 765/2008, dans le domaine d'analyse des matières fertilisantes et supports de culture. L'emploi de toute autre méthode doit être justifié et il convient d'utiliser en priorité les méthodes normalisées ou standardisées. L'emploi de toute autre méthode doit être justifié. 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>

Pour le directeur général, par délégation,
le directeur,
Direction de l'évaluation des produits réglementés

Mots-clés : RHIZOCELL – extrait de levures inactivées *Saccharomyces cerevisiae* - *Bacillus amyloliquefaciens* souche IT45 - FREG.

¹⁰ Conformément au code rural et de la pêche maritime.

ANNEXE 1

Paramètres revendiquées par le demandeur pour le renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du produit RHIZOCELL

(Formulaire cerfa n° 16073*01 du 16/03/2022)

Paramètres déclarables	Teneurs garanties revendiquée par le demandeur (sur produit brut)
Matière sèche	96 %
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> souche IT45	Minimum 10 ⁹ ufc/g

Usages revendiqués par le demandeur pour le renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du produit RHIZOCELL

(Formulaire cerfa n° 16073*01 du 16/03/2022)

Cultures	Doses d'apport	Nombre maximal d'apports par an	Mode d'apport	Epoques d'apport
Cultures florales	0,05 g/cm (diamètre)	1	Trou de plantation	A la plantation (avant cycle de croissance végétative)
	0,02 g/cm (diamètre)	12	Pots	
	0,02 g par alvéole	3	Caissette alvéolée	
Cultures maraîchères	1 kg/ha	6	Apport au sol	Au semis
Mélange au substrats	400 g/m ³	12	-	-
Grandes cultures	1 k/ha	2	Pulvérisation au sol	Au semis ou à la plantation, puis au début du cycle de croissance végétative
Semences (cultures florales, cultures maraîchères et maïs)	1 kg/ha	1	Traitement de semences	Au semis