

**ÉTATS-UNIS – MAINTIEN DE LA SUSPENSION
D'OBLIGATIONS DANS LE DIFFÉREND
CE – HORMONES**

Rapport du Groupe spécial

Addendum

Le présent addendum contient l'annexe D du rapport du Groupe spécial qui se trouve dans le document WT/DS320/R. Les autres annexes sont reproduites dans les addenda suivants:

- Annexe A: Add.1
- Annexe B: Add.2
- Annexe C: Add.3
- Annexe E: Add.5
- Annexe F: Add.6
- Annexe G: Add.7

ANNEXE D

RÉPONSES DES EXPERTS SCIENTIFIQUES AUX QUESTIONS
POSÉES PAR LE GROUPE SPÉCIAL

A. DÉFINITIONS GÉNÉRALES

1. **Veuillez donner des définitions brèves et élémentaires des six hormones en question (œstradiol-17 β , progestérone, testostérone, acétate de trenbolone, zéranol, et acétate de mélengestrol) en indiquant, le cas échéant, la source de la définition.**

M. Boisseau

1. L'œstradiol-17 β , qui est la plus active des hormones œstrogènes, est produit principalement par les follicules ovariens en développement chez les mammifères femelles, mais aussi par les glandes surrénales et les testicules. Cette hormone stéroïdienne à 18 atomes de carbone est principalement administrée comme telle ou sous forme de benzoate ester, seule (24 ou 45 mg pour les bovins) ou en association avec la testostérone propionate (200 mg pour les génisses), la progestérone (200 mg pour les génisses et les bouvillons) et la trenbolone (200 mg et 40 mg d'œstradiol-17 β pour les bouvillons) au moyen d'un implant sous-cutané placé à la base de l'oreille pour améliorer le poids corporel et l'indice de conversion alimentaire des bovins. Au moment de l'abattage, l'oreille est éliminée.

2. La progestérone est une hormone produite principalement par le corps jaune de l'ovaire des mammifères femelles adultes. Elle est administrée aux bovins, en général par doses de 200 mg en association avec l'œstradiol-17 β ou l'œstradiol benzoate (généralement 20 mg) au moyen d'un implant sous-cutané placé à la base de l'oreille pour améliorer le poids corporel et l'indice de conversion alimentaire des bovins. Au moment de l'abattage, l'oreille est éliminée.

3. La testostérone est une hormone produite principalement dans les testicules des mammifères mâles adultes. Ce stéroïde à 19 atomes de carbone a de puissantes propriétés androgènes. La testostérone est administrée sous forme de testostérone propionate (200 mg) en association avec l'œstradiol-17 β ou l'œstradiol benzoate (20 mg) au moyen d'un implant sous-cutané placé à la base de l'oreille pour améliorer le poids corporel et l'indice de conversion alimentaire des bovins. Au moment de l'abattage, l'oreille est éliminée.

4. L'acétate de mélengestrol est un progestatif de synthèse actif par voie orale, environ 30 fois plus actif que la progestérone. Il est utilisé pour améliorer le poids corporel et l'indice de conversion alimentaire des bovins femelles de boucherie. Il est ajouté aux aliments des génisses, par doses quotidiennes de 0,25 à 0,50 mg, en général pendant les 90 à 150 jours précédant l'abattage.

5. L'acétate de trenbolone est un stéroïde de synthèse doté de propriétés anabolisantes plusieurs fois supérieures à celles de la testostérone. Il est administré seul (300 mg pour les génisses) ou en association avec l'œstradiol-17 β (20 mg pour les veaux et 40 mg pour les bouvillons) au moyen d'un implant sous-cutané placé à la base de l'oreille pour améliorer le poids corporel, l'indice de conversion alimentaire et la rétention azotée des bovins. Il est administré aux animaux entre 60 et 90 jours, ou plus, avant la date d'abattage prévue. Au moment de l'abattage, l'oreille est éliminée.

6. Le zéranol est un myco-œstrogène naturel dérivé de la zéaralénone produite par diverses espèces de moisissures du genre *Fusarium*. Cet anabolisant non stéroïdien est administré aux bovins soit seul (36 mg), soit en association avec l'acétate de trenbolone (140 mg) au moyen d'un implant sous-cutané placé à la base de l'oreille pour améliorer le poids corporel et l'indice de conversion alimentaire des animaux.

M. Boobis¹

7. L'œstradiol-17β est la plus puissante des hormones œstrogènes des mammifères. Il est produit dans l'ovaire, le placenta, le testicule et peut-être le cortex surrénal (*ChemIDPlus Advanced, National Library of Medicine* (<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus>)).
8. L'œstradiol-17β est le plus puissant des stéroïdes œstrogènes des mammifères. Chez la femme, il est produit principalement par les ovaires au cours du cycle ovarien, et par le placenta. Il est également produit par les tissus adipeux des hommes, et par les femmes ménopausées (*PubChem, National Library of Medicine* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)).
9. La progestérone est la principale hormone progestative du corps; elle est sécrétée par le corps jaune, le cortex surrénal et le placenta. La progestérone a pour fonction principale de préparer l'utérus à la réception et au développement de l'œuf fécondé. Elle a une action antiovulatoire lorsqu'elle est administrée entre le 5^{ème} et le 25^{ème} jour du cycle menstruel (*ChemIDPlus Advanced*).
10. La progestérone est le principal stéroïde progestatif sécrété principalement par le corps jaune et le placenta. La progestérone agit sur l'utérus, les glandes mammaires et le cerveau. Elle est nécessaire à la nidation de l'embryon, au maintien de la gestation et au développement du tissu mammaire en vue de la production de lait. La progestérone, obtenue par transformation de la prégnénolone, sert également d'intermédiaire dans la biosynthèse des hormones stéroïdes gonadiques et des corticoïdes sécrétés par la corticosurrénale (*PubChem*).
11. La testostérone est un puissant stéroïde androgène et le principal produit sécrété par les cellules de Leydig du testicule. Sa production est stimulée par l'hormone lutéinisante de l'hypophyse. La testostérone exerce à son tour un rétrocontrôle sur la sécrétion d'hormone lutéinisante (LH) et d'hormone follico-stimulante (FSH) par l'hypophyse. Selon les tissus, la testostérone peut faire l'objet d'une transformation supplémentaire aboutissant à la dihydrotestostérone ou à l'œstradiol (*PubChem*).
12. L'acétate de trenbolone est un stéroïde de synthèse qui est utilisé en tant qu'anabolisant en pratique vétérinaire (*Martindale: The Complete Drug Reference* (2006), *Pharmaceutical Press, London*).
13. Le zéranol est un métabolite naturel de la zéaralénone, mycotoxine produite par un certain nombre d'espèces de champignons du genre *Fusarium*. La présentation commerciale contient spécifiquement l'isomère α. Le zéranol est un anabolisant non stéroïdien. (*JECFA (1988a). Evaluation toxicologique des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments: Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 23, OMS, Genève, Suisse*).
14. Le zéranol est un œstrogène non stéroïdien utilisé dans le traitement des troubles ménopausiques et menstruels. Dans la pratique vétérinaire, il est également utilisé comme activateur de croissance (*Martindale: The Complete Drug Reference*).
15. L'acétate de mélengestrol est un acétate de la méthyl-6 progestérone, actif par voie orale, dont l'activité glucocorticoïde a été observée et qui agit sur l'œstrus (*PubChem*).
16. L'acétate de mélengestrol est un progestatif qui, mélangé aux aliments fournis aux génisses, permet d'améliorer l'indice de conversion, d'accélérer le gain de poids corporel et de supprimer l'œstrus (*Martindale: The Complete Drug Reference*).

¹ On trouvera à l'Appendice 1 une liste complète des références mentionnées dans les réponses de M. Boobis.

M. Guttenplan

17. Estradiol-17 β : hormone sexuelle œstrogène qui, chez la femelle, agit au cours du cycle ovarien et assure la salubrité de l'utérus. Chez le mâle, inhibe la synthèse de la testostérone. Fait partie des corps dénommés stéroïdes (qui, d'un point de vue chimique, sont composés de trois cycles hexaniques et d'un cycle pentanique).
18. Progestérone: anti-œstrogène stéroïdien utilisé en tant que contraceptif et dans le traitement des anomalies du cycle menstruel.
19. Testostérone: hormone sexuelle androgène stéroïdienne qui, chez le mâle, régit la production des composants du sperme. La testostérone joue également un rôle important dans le développement des caractères sexuels secondaires.
20. Acétate de trenbolone: hormone anabolisante (stimulatrice de croissance) de synthèse souvent utilisée sur les bovins.
21. Zéranol: **activateur de croissance** non stéroïdien de synthèse **souvent utilisé sur les bovins**.
22. Acétate de mélangestrol: activateur de croissance stéroïdien de synthèse souvent utilisé sur les bovins. Également utilisé pour la synchronisation de l'œstrus chez les bovins.

(Avis du CSMVSP, 1999 (pièce US-4, 1^{ère} partie))

2. **Veillez fournir des définitions des termes suivants dans la mesure où ils ont trait aux hormones en question, en indiquant, le cas échéant, la source de la définition: anabolisants, stéroïdes, œstrogènes stéroïdiens, composés d'origine/métabolites, métabolites à structure catéchol, mitogénicité, mutagénicité, activité androgène/œstrogène, génotoxicité, potentiel génotoxique, cancérogénicité et tumorigénicité. Dans vos réponses, veillez à signaler et à décrire toute différence pertinente entre les termes.**

M. Boobis

Anabolisant

23. Composé chimique complexe formé dans l'organisme à partir de composés inférieurs de taille plus réduite (par exemple formation de protéines à partir d'acides aminés), accompagnée généralement d'une dépense d'énergie. Cf.: catabolisme, métabolisme. *Stedman's Medical Dictionary (2000), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.*
24. Testostérone, ou hormone stéroïde ressemblant à la testostérone: stimulatrice de la croissance ou de la production de tissus corporels. *Taber's Cyclopedic Medical Dictionary – 20th Ed (2005), F. A. Davis Company, Philadelphia, PA.*
25. Anabolisme: ensemble de processus du métabolisme menant à la synthèse de composants cellulaires à partir de précurseurs à bas poids moléculaire. *IUPAC (1997). Compendium of Chemical Terminology, 2nd Edition (<http://www.iupac.org/publications/books/author/mcnaught.html>).*

Stéroïdes

26. Importante famille de substances chimiques, comprenant un grand nombre d'hormones, de constituants organiques et de médicaments, qui comportent toutes le squelette tétracyclique du cyclopenta[a]phénanthrène. *Stedman's Medical Dictionary*.

Œstrogènes stéroïdiens

27. Composés (stéroïdiens) qui provoquent le comportement d'œstrus ("partie ou phase du cycle sexuel de la femelle qui se caractérise par sa prédisposition à accepter le mâle"). *Hughes, C. (1996). Are the differences between estradiol and other estrogens merely semantical? (Lettre à l'éditeur). J. Clin Endocrinol Metab 81:2405.*

28. Une définition biochimique plus stricte pourrait être la suivante: composés à structure stéroïde qui suscitent des effets endocriniens qualitativement similaires à ceux de l'œstradiol-17β et agissent par l'intermédiaire des récepteurs des œstrogènes.

Composés d'origine/métabolites

29. S'agissant de composés exogènes, le composé d'origine est le composé auquel est exposé un individu. Le rapport entre le composé d'origine et le métabolite est le suivant: le composé d'origine sert de substrat à la biotransformation (conversion enzymatique) pour générer un produit chimiquement différent, le métabolite (*A. Boobis*). En ce qui concerne les métabolites des médicaments vétérinaires, il est possible que les résidus qui subsistent dans la viande comprennent, au moins en partie, un ou plusieurs métabolites du médicament utilisé dans le traitement des animaux. L'ingestion de ces métabolites peut entraîner leur métabolisation chez l'homme. La relation composé d'origine/métabolite subsiste donc, même pour de tels composés.

30. Métabolite: toute substance intermédiaire ou produit formé au cours du métabolisme. National Library of Medicine (1993). Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology (<http://www.sis.nlm.nih.gov/enviro/glossarymain.html>; Pure Appl Chem, 1993, 65, 2003-2122).

31. Métabolisme: dans un sens plus restreint, s'agissant des médicaments, le métabolisme est un mécanisme de clairance, c'est-à-dire la transformation biochimique irréversible d'un composé en une autre substance chimique (le métabolite). Le métabolite est généralement plus polaire (hydrosoluble) et donc plus facile à excréter que le composé d'origine. De ce fait, le métabolisme favorise l'excrétion des médicaments. *Absorption Systems (2006). Glossary Terms (<http://www.absorption.com/Site/Glossary/Default.aspx>).*

Métabolites à structure catéchol

32. Toute substance intermédiaire ou produit résultant du métabolisme (transformation enzymatique) et contenant la structure de base benzène-1,2-diol. *IUPAC (1993). A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds, Blackwell Science, Oxford, UK.*

Mitogénicité

33. Propriété permettant à un agent de déclencher la mitose et la multiplication cellulaire. La mitose est le processus par lequel un noyau cellulaire se divise en deux noyaux fils, dotés chacun du même patrimoine génétique que la cellule mère. La division nucléaire est généralement suivie de la division cellulaire. (*NLM Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology*).

Mutagénicité

34. Capacité d'un agent physique, chimique ou biologique de provoquer des modifications transmissibles par voie héréditaire (mutations) dans le génotype d'une cellule par suite d'altérations ou de pertes (totales ou partielles) de gènes ou de chromosomes.

35. Mutation: toute modification relativement stable, transmissible par voie héréditaire, du matériel génétique qui peut correspondre à une transformation chimique d'un gène particulier (mutation génique ou ponctuelle) modifiant sa fonction, ou au réarrangement, à la perte ou à l'ajout d'une partie d'un chromosome, parfois visible au microscope (mutation chromosomique). La mutation peut être germinale et héritée par les générations suivantes, ou somatique et transmise par la lignée cellulaire, du fait de la division des cellules. *NLM Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology*.

Activité androgène

36. Capacité d'interagir avec les récepteurs des androgènes des tissus cibles afin de provoquer des effets similaires à ceux de la testostérone. Selon les tissus cibles, les effets androgènes peuvent s'exercer sur la différenciation sexuelle, les organes reproducteurs mâles et la spermatogenèse, les caractères sexuels secondaires, la libido, le développement de la masse, de la force et de la puissance musculaires.

37. Capacité de stimuler le développement et le maintien des caractères sexuels masculins. National Library of Medicine, Genetics Home Reference (<http://ghr.nlm.nih.gov/ghr/glossary/Glossary>).

Activité œstrogène

38. Activité biologique similaire à celle d'un œstrogène.

39. Les œstrogènes provoquent l'épaississement de la muqueuse de l'utérus et du vagin au cours de la phase initiale du cycle ovulatoire, ou menstruel. Chez les animaux inférieurs, la sécrétion cyclique d'œstrogènes produit en outre l'œstrus ou "chaleur". Les œstrogènes sont également responsables des caractères sexuels féminins secondaires tels que la pilosité pubienne et les seins. Ils affectent d'autres tissus dont notamment les organes génitaux, la peau, les cheveux, les vaisseaux sanguins, les os et les muscles pelviens. *The Columbia Electronic Encyclopedia (2003), Sixth Edition, Columbia University Press, New York City, NY*.

40. Plusieurs mécanismes permettent de provoquer une activité œstrogène: l'imitation des œstrogènes naturels et l'interaction avec les récepteurs des œstrogènes, l'action sur les voies métaboliques sensibles aux œstrogènes par quelque autre mécanisme et la modification des concentrations d'œstrogènes endogènes du fait de la modification des taux de synthèse ou de dégradation des œstrogènes. *Lintelmann J, Katayama A, Kurihara N, Shore L, et Wenzel A (2003). Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report) Pure Appl Chem, 75, 631–681. Miyamoto J et Burger J (Editors) (2003). Special Topic Issue on the Implications of Endocrine Active Substances for Humans and Wildlife. Pure Appl Chem, 75:1617-2615.*

Génotoxicité

41. Capacité de provoquer des lésions du matériel génétique. Ces lésions peuvent relever d'un effet mutagène et/ou cancérogène. *NLM Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology*.

42. La mutagénicité est une forme de génotoxicité. Toutefois génotoxicité ne signifie pas nécessairement mutagénicité. On peut citer en exemple la formation d'adduits à l'ADN et les lésions

de l'ADN qui ne conduisent pas à une modification du patrimoine héréditaire. S'il est vrai que la formation d'un adduit peut entraîner une mutation, la présence d'adduits en soi est un indice de génotoxicité et non de mutagénicité.

Potentiel génotoxique

43. Caractéristiques qui, selon des considérations telles que les résultats de tests *in vitro*, permettent d'affirmer qu'un composé est génotoxique (généralement *in vivo*). Il reste à déterminer si la génotoxicité s'exprime véritablement *in vivo*, c'est-à-dire si le potentiel se matérialise (*Interprétation de A. Boobis de l'usage du terme par le JECFA et ailleurs*).

Cancérogénicité

44. Processus d'induction de néoplasmes malins par des agents chimiques, physiques ou biologiques.

45. Néoplasme malin: population de cellules présentant à la fois une croissance incontrôlée et une tendance à envahir et à détruire d'autres tissus. La malignité met en jeu le pronostic vital.

46. Néoplasme: formation nouvelle et anormale de tissu sous forme de tumeur ou de croissance due à une multiplication cellulaire plus rapide que la normale qui se poursuit après la disparition du stimulus initial qui a donné naissance à cette multiplication. *NLM Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology*.

Tumorigénicité

47. Processus d'induction de tumeurs, par exemple toute tuméfaction ou croissance tissulaire anormale, qu'elle soit bénigne ou maligne. *NLM Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology*.

48. En conséquence, s'il est vrai que les cancérogènes produisent des tumeurs (qui sont malignes), les agents tumorigènes ne provoquent pas nécessairement des néoplasies malignes.

M. Guttenplan

49. Anabolisants: agents qui, chez les animaux, stimulent généralement l'augmentation de la masse musculaire. En biochimie, substances qui favorisent la formation de molécules complexes à partir de molécules plus réduites.

50. Stéroïdes: métabolites du cholestérol contenant trois cycles hexaniques et un cycle pentanique.

51. Œstrogènes stéroïdiens: œstrogènes comportant le système des cycles stéroïdiens.

52. Composés d'origine/métabolites: dans une conversion chimique, on appelle "composé d'origine" la substance chimique initiale, et "métabolite" le produit obtenu.

53. Métabolites à structure catéchol: les catéchols sont des composés comportant un cycle benzénique doté de deux groupements hydroxyles sur le noyau. La conversion de ces produits en composés différents donne naissance à des métabolites à structure catéchol.

54. Mitogénicité: activité qui concerne ou cause la division cellulaire.

55. Mutagénicité: activité qui concerne ou cause une modification de la composition de l'ADN. Peut également se rapporter à une modification de la structure protéique.
56. Activité androgène: activité similaire à celle d'une hormone sexuelle masculine.
57. Œstrogène: qui se comporte de façon similaire à une hormone sexuelle féminine.
58. Génotoxicité: activité qui concerne ou cause des lésions de l'ADN.
59. Potentiel génotoxique: capacité de provoquer des lésions de l'ADN.
60. Cancérogénicité: activité qui concerne ou cause un processus conduisant au cancer.
61. Tumorigénicité: activité qui concerne ou cause la formation de tumeurs. Ce terme fait référence à la formation de tumeurs alors que le terme "cancérogénicité" peut également englober le processus d'induction (*Codex – Évaluation des risques microbiologiques*).

B. TECHNIQUES D'ÉVALUATION DES RISQUES

3. **Veillez énumérer les documents internationaux d'orientation ayant un rapport avec la conduite d'une évaluation des risques liés aux résidus de médicaments vétérinaires. Depuis quand ces documents sont-ils disponibles? Veillez également indiquer si des travaux sur ce thème sont en cours au sein du Codex.**

M. Boisseau

62. À ma connaissance, il n'existe aucun document international d'orientation ayant un rapport avec la conduite d'une évaluation des risques liés aux résidus de médicaments vétérinaires. Actuellement, il n'existe aucun document d'orientation du Codex concernant la conduite d'une évaluation des risques associés aux résidus de médicaments vétérinaires. La situation est similaire dans l'Union européenne. Le CMV a évalué toutes les substances pharmacologiquement actives utilisées en médecine vétérinaire sans publier de directive écrite en matière d'évaluation des risques.

63. Voici environ 15 ans, j'ai proposé au Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CCRVDF) d'élaborer et d'adopter une orientation relative à la gestion des risques comprenant notamment une politique d'évaluation des risques. Pendant sa dernière session, qui s'est tenue au mois de mai 2006 à Cancún (Mexique), le CCRVDF a décidé de proposer au Comité du Codex sur les principes généraux (CCGP) et à la Commission du Codex une ébauche de projet concernant une justification de l'analyse de risques que devrait mettre en œuvre le CCRVDF. Cette ébauche est composée de deux parties: 1) une procédure décrivant les interactions entre le CCRVDF, chargé de la gestion des risques, et le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA), responsable de l'évaluation des risques, et comportant en annexe le formulaire que les États membres devraient utiliser pour établir un profil de risque; 2) les principes d'une politique d'évaluation des risques.

M. Boobis

Documents internationaux d'orientation

64. Les documents internationaux d'orientation disponibles ayant un rapport avec la conduite d'une évaluation des risques liés aux résidus de médicaments vétérinaires sont les suivants:

OMS (2001): Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (version actuelle, janvier 2001).

Règles de procédure de l'OMS pour le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

OMS (1996): Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (version actuelle, août 1996). Directives pour l'élaboration de documents de travail dans le domaine de la toxicologie pour le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (septembre 2002).

Règles de procédure de la FAO (2002) pour le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

Procédures pour recommander des limites maximales de résidus – Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (1987-1999) (FAO, 2000a).

Environmental Health Criteria (EHC) 70: *Principles For The Safety Assessment Of Food Additives And Contaminants In Food* (PISC, 1987).

Environmental Health Criteria (EHC) 104: *Principles For The Toxicological Assessment of Pesticide Residues In Food* (PISC, 1990).

65. Il est également possible de consulter les sections pertinentes des considérations générales des rapports du JECFA, qui décrivent les orientations élaborées par le Comité au cours des années et qui mettent à jour en permanence les procédures d'évaluation des risques (volumes pertinents de la série des rapports techniques de l'OMS).

66. Le Codex publie un Manuel de procédure qui contient une orientation générale sur les politiques d'analyse et d'évaluation des risques. Ce manuel est mis à jour de façon régulière. La dernière (15^{ème}) version a été publiée en 2005. *Commission du Codex Alimentarius (2005). Manuel de procédure, 15^{ème} édition, OMS et FAO, Rome, Italie (ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_15f.pdf).*

67. Le Codex met actuellement en place une politique d'évaluation des risques en vue de la recommandation de limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. À ma connaissance ce projet se trouve encore à l'état d'ébauche (voir JECFA, 2006a).

CCRVDF (2005). Méthodologies de gestion des risques, y compris les politiques d'évaluation des risques, au sein du comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (ftp://ftp.fao.org/codex/Ccrvdf16/rv16_10f.pdf).

JECFA (2006a). Summary and Conclusions of Sixty-sixth meeting (Residues of veterinary drugs), Rome, 22-28 février 2006 (<http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/summary66.pdf>).

4. Les Communautés européennes affirment qu'il n'existe "aucune norme du Codex concernant de façon spécifique l'évaluation des risques liés aux effets des résidus de médicaments vétérinaires", mais une norme générale relative à l'évaluation microbiologique. Cela est-il exact? Sur quels principes ou lignes directrices se fonde le JECFA pour réaliser ses évaluations de risques en ce qui concerne les hormones en

question? [voir le paragraphe n° 192 de la communication présentée par les CE à titre de réfutation (affaire États-Unis)]

M. Boisseau

68. Les Communautés européennes ont raison d'affirmer qu'il n'existe "aucune norme du Codex concernant de façon spécifique l'évaluation des risques liés aux effets des résidus de médicaments vétérinaires". Pour mener l'évaluation des risques liés aux hormones en question, comme dans le cas de toutes les autres substances pharmacologiquement actives utilisées en médecine vétérinaire, le JECFA a appliqué les principes généraux suivis par l'ensemble des pays qui ont évalué la sécurité sanitaire des résidus de médicaments vétérinaires. Ces principes ont fait l'objet d'une harmonisation à l'échelle internationale grâce à des conférences scientifiques, et il est permis d'affirmer qu'il existait un accord international non écrit à leur sujet. Néanmoins, au cours des années 80, le Programme international sur la sécurité chimique (PISC) a parrainé l'élaboration et la publication de la monographie n° 70 de la série *Environmental Health Criteria* (EHC), intitulée "*Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in foods*" (Principes régissant l'évaluation de la sécurité sanitaire des additifs et contaminants alimentaires dans les aliments). Par la suite, le JECFA a régulièrement développé et consolidé, au cours de ses réunions, les principes de la monographie EHC n° 70, mais n'a jamais publié les résultats de ce travail dans un document officiel ou une monographie sur l'évaluation des risques liés aux résidus de médicaments vétérinaires, exception faite toutefois des risques microbiologiques.

M. Boobis

Normes du Codex pour l'évaluation des risques

69. La signification de l'assertion des CE, selon laquelle il n'existe "aucune norme du Codex concernant de façon spécifique l'évaluation des risques liés aux effets des résidus de médicaments vétérinaires", mais une norme générale relative à l'évaluation microbiologique, n'est pas claire. Il est assurément vrai que le Codex n'a publié aucun manuel d'orientation détaillé sur l'évaluation des effets des résidus de médicaments vétérinaires, mais il existe des principes directeurs, qui étaient déjà en vigueur en 1999. Ceux-ci concernent les procédures d'évaluation des risques, les répercussions et la signification des doses journalières admissibles (DJA) et les procédures permettant de déterminer les limites maximales de résidus (LMR). Comme cela a été indiqué ci-dessus, le JECFA s'est basé sur un certain nombre de documents pertinents pour établir ses procédures d'évaluation et a mis au point une méthode novatrice d'évaluation des risques associés aux résidus d'antimicrobiens qui n'était pas décrite en détail dans cette orientation. Une orientation spécifique a donc été élaborée par le JECFA et adoptée par le Codex. En revanche, les méthodes utilisées dans l'évaluation des hormones se sont fondées sur les principes établis pour l'évaluation des risques liés aux composés toxicologiquement (par opposition à microbiologiquement) actifs.

M. Guttenplan

70. Il est exact d'affirmer qu'il n'existe "aucune norme du Codex concernant de façon spécifique l'évaluation des risques liés aux effets des résidus de médicaments vétérinaires".

71. Une monographie intitulée "*TOXICOLOGICAL EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD*" (Évaluation toxicologique de certains résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments), Série de rapports sur les additifs alimentaires n° 43, élaborée par la 52^{ème} réunion du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA), décrit les données utilisées pour déterminer les DJA pour l'œstradiol, la progestérone et la testostérone. Les principes de l'évaluation des risques (décrits ci-dessous) ont été appliqués dans la détermination de ces DJA.

5. **Veillez décrire brièvement les trois volets du processus d'analyse des risques (évaluation des risques, gestion des risques et communication sur les risques), et expliquer en quoi ils diffèrent.**

M. Boisseau

72. La brève description des trois volets du processus d'analyse des risques proposée ci-dessous concerne les résidus de médicaments vétérinaires susceptibles de se trouver dans les aliments d'origine animale.

73. L'évaluation des risques est une procédure effectuée par des personnes possédant les compétences scientifiques et techniques appropriées. Elle a pour objet de déterminer la probabilité pour un effet imprévu et indésirable de se produire par suite de l'ingestion de résidus de médicaments vétérinaires susceptibles de se trouver dans des aliments d'origine animale, et la gravité de cet effet pour le consommateur. Seules des données scientifiques pertinentes pour ce qui concerne l'évaluation de ce risque doivent être prises en compte dans cette procédure. Dans la procédure du Codex, le JECFA est chargé de réaliser l'évaluation des risques pour les résidus de médicaments vétérinaires.

74. La gestion des risques est une procédure effectuée par les responsables politiques ou administratifs. Elle a pour objet de mettre les consommateurs à l'abri de tout problème de santé publique associé à la présence éventuelle de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. Des critères autres que les critères scientifiques, par exemple économiques, sociologiques, culturels, etc., peuvent être pris en considération pendant cette procédure. En général, la procédure aboutit à des décisions réglementaires et/ou administratives.

La procédure de gestion des risques se déroule habituellement en quatre étapes:

- 1) Évaluation des risques:
 - identification d'un problème de sécurité alimentaire;
 - établissement d'un profil de risque;
 - classement des dangers pour définir les priorités d'évaluation des risques et de gestion des risques;
 - définition d'une politique d'évaluation des risques;
 - demande d'une évaluation des risques;
 - examen des résultats de l'évaluation des risques.
- 2) Évaluation des diverses options de gestion des risques:
 - identification des diverses options possibles de gestion des risques;
 - sélection de l'option préférée de gestion des risques;
 - décision finale relative à la gestion des risques.
- 3) Mise en œuvre de la décision relative à la gestion des risques.
- 4) Suivi et réexamen:
 - évaluation de l'efficacité des mesures prises;
 - suivi de la gestion et/ou de l'évaluation des risques selon que de besoin.

75. La procédure de gestion des risques a été analysée par une consultation mixte d'experts FAO/OMS en 1997.

76. Dans la procédure du Codex, celui-ci est chargé de la gestion des risques liés aux résidus de médicaments vétérinaires.

77. Bien qu'il soit souhaitable et utile que les responsables de l'évaluation des risques soient en communication avec les personnes chargées de la gestion de ces risques, les scientifiques qui exécutent la procédure d'évaluation doivent être en mesure de réaliser leur travail sans aucune influence de la part des responsables politiques ou administratifs. Afin de préserver leur indépendance, les scientifiques sont très souvent amenés à réaliser leurs travaux au sein d'organismes spécialisés à l'échelon national ou régional. Le JECFA est un comité d'experts indépendant du Codex à la demande duquel il effectue, entre autres choses, l'évaluation des risques associés aux résidus de médicaments vétérinaires. Le Codex, notamment le CCRVDF et la Commission du Codex, intervient, en même temps que les États membres, dans la gestion des risques. Les évaluateurs de risques doivent publier les conclusions des évaluations réalisées. Le JECFA élabore à cet effet des monographies concernant l'évaluation toxicologique et les résidus, qui sont publiées respectivement par l'OMS et la FAO. Les évaluateurs de risques peuvent présenter, dans leurs conclusions, des recommandations aux personnes/organismes chargés de la gestion des risques, mais ils ne sont pas compétents pour prendre des décisions réglementaires ou administratives.

78. La communication sur les risques est un processus interactif d'échange d'informations et d'opinions sur les risques potentiels associés aux résidus de médicaments vétérinaires susceptibles d'être présents dans les aliments d'origine animale, dans lequel interviennent:

- 1) les évaluateurs de risques;
- 2) les gestionnaires de risques;
- 3) d'autres parties prenantes, telles que:
 - les consommateurs,
 - les vétérinaires,
 - les zootechniciens,
 - les éleveurs,
 - l'industrie de la santé animale,
 - l'industrie agroalimentaire.

La communication sur les risques doit notamment:

- promouvoir la prise de conscience et la compréhension des enjeux spécifiques pris en compte pendant l'analyse des risques;
- promouvoir la cohérence et la transparence dans la formulation des options/recommandations de gestion des risques;
- fournir une base solide pour la compréhension des décisions de gestion des risques proposées;
- améliorer l'efficacité globale de l'analyse des risques.

79. Les scientifiques chargés de la procédure d'évaluation des risques sont responsables de la communication concernant les questions associées à l'évaluation des risques, et les décideurs politiques ou administratifs doivent se charger de la communication relative aux questions associées à la gestion des risques.

80. La communication sur les risques a été analysée par une consultation mixte d'experts FAO/OMS.

M. Boobis

Volets de l'analyse des risques

81. Les trois volets du processus d'analyse des risques peuvent être décrits comme suit.

Évaluation des risques

82. Processus ayant pour objet de calculer ou d'estimer, compte tenu des incertitudes inhérentes à l'évaluation, le risque que présente, pour un organisme, un système ou une (sous-)population donnés, l'exposition à un agent particulier, eu égard aux caractéristiques intrinsèques de l'agent jugé préoccupant, ainsi qu'aux caractéristiques du système cible spécifique.

Tiré de PISC (2004). Risk Assessment Terminology, OMS, Genève (<http://www.iseaweb.org/ipcsterminologyparts1and2.pdf>).

Gestion des risques

83. Processus, distinct de l'évaluation des risques, consistant à mettre en balance les différentes politiques possibles en consultation avec toutes les parties intéressées, en tenant compte de l'évaluation des risques et d'autres facteurs ayant une importance pour la protection de la santé des consommateurs et la promotion de pratiques commerciales loyales et, au besoin, à choisir les mesures de prévention et de contrôle appropriées.

84. La gestion des risques comprend trois éléments: l'évaluation des risques, le contrôle de l'émission et de l'exposition et le suivi des risques.

Tiré de Commission du Codex Alimentarius, Manuel de procédure, 15^{ème} édition (2005).

Communication sur les risques

85. Échange interactif, tout au long du processus d'analyse des risques, d'informations et d'opinions sur les risques, les facteurs liés aux risques et les perceptions des risques, entre les responsables de leur évaluation et de leur gestion, les consommateurs, l'industrie, les milieux universitaires et les autres parties intéressées, et notamment l'explication des résultats de l'évaluation des risques et des fondements des décisions prises en matière de gestion des risques.

Tiré de Commission du Codex Alimentarius, Manuel de procédure, 15^{ème} édition (2005).

86. L'évaluation des risques est un processus scientifique au cours duquel les données sont évaluées et sur cette base, compte tenu du poids de la preuve et de l'appréciation des experts, une conclusion est atteinte concernant la nature des dangers, le risque potentiel pour les individus exposés, et la mesure dans laquelle l'exposition (mesurée ou estimée) se rapproche des niveaux considérés comme ne présentant pas de risque décelable. L'évaluation des risques aboutit, dans le cas des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, à une valeur guide fondée sur des critères sanitaires: la dose journalière admissible (DJA). Un aspect important de l'évaluation des risques consiste à identifier et à décrire les incertitudes associées à cette évaluation. La limite maximale de résidus (LMR) est un niveau d'exposition compatible à la fois avec la protection de la santé et avec les bonnes pratiques vétérinaires. La DJA ne détermine pas la LMR recommandée par le JECFA et soumise à la considération du Codex. Toutefois, au cours de l'étape de caractérisation des risques du processus

d'évaluation, la comparaison entre l'exposition basée sur les bonnes pratiques vétérinaires, conduisant à certaines LMR, et la DJA, permet de vérifier si l'exposition est compatible avec une protection adéquate. Si ce n'est pas le cas, l'évaluation des risques peut être améliorée, mais on peut également conclure à l'impossibilité d'établir une LMR garantissant que l'exposition sera cohérente avec la protection de la santé publique.

87. La gestion des risques n'est pas un processus scientifique mais, en ce qui concerne, dans le cas présent, l'utilisation et l'acceptabilité d'un médicament vétérinaire, une procédure par laquelle sont mises en place des politiques compatibles avec la protection du public, les bonnes pratiques vétérinaires, l'efficacité, et l'application de pratiques commerciales loyales. En conséquence, le résultat de l'évaluation des risques constitue un apport à la prise de décision en matière de gestion des risques. Ce n'est toutefois pas le seul, comme cela a été indiqué plus haut. Certains aspects, tels que la nécessité du produit pour les soins vétérinaires, ou la sécurité des disponibilités alimentaires, peuvent également entrer en ligne de compte. Normalement, le gestionnaire de risques accepte le résultat fourni par l'évaluateur dans la mesure où il s'agit de la conclusion des experts scientifiques dans le domaine considéré. Il doit y avoir une séparation claire entre l'évaluation et la gestion des risques. Cela ne signifie pas qu'il ne doit exister aucune communication, mais les évaluateurs de risques doivent être seuls responsables de leurs conclusions et ne doivent pas être influencés par les contraintes politiques du gestionnaire de risques. De la même façon, le gestionnaire des risques doit accepter les conclusions de l'évaluateur, sauf s'il existe une raison évidente de les contester. Si le gestionnaire des risques choisit une ligne d'action plus, ou moins, prudente que celle qui serait justifiée sur la base de l'évaluation des risques, les raisons de son choix doivent être claires, et distinctes de l'évaluation.

M. Cogliano

88. On entend par évaluation des risques l'utilisation de données scientifiques pour décrire les effets néfastes causés par une exposition à des agents dangereux. On appelle communication sur les risques l'art d'expliquer ces risques à différents publics. La gestion des risques s'entend du processus qui consiste à analyser un risque en même temps que d'autres facteurs (mandats statutaires, faisabilité technique, coût, capitaux, normes collectives, par exemple) et à prendre une décision concernant la nécessité et la manière d'atténuer ce risque. Il s'agit de trois activités distinctes qui sont mises en œuvre dans des buts différents.

M. Guttenplan

89. L'évaluation des risques s'entend du processus à base scientifique comprenant les étapes suivantes: i) identification des dangers, ii) caractérisation des dangers, iii) évaluation de l'exposition et iv) caractérisation des risques. Son objectif essentiel est d'évaluer le risque.

90. La gestion des risques s'entend du processus consistant à mettre en balance les différentes politiques possibles, à la lumière des résultats de l'évaluation des risques et, au besoin, à choisir et à mettre en œuvre les mesures de contrôle appropriées, y compris des mesures réglementaires. Elle s'intéresse essentiellement au danger, en général pour réduire le risque.

91. La communication sur les risques s'entend de l'échange interactif d'informations et d'opinions sur les risques et sur la gestion des risques entre les responsables de leur évaluation et de leur gestion, les consommateurs et les autres parties intéressées. Elle a pour objet principal de faire connaître les risques aux parties intéressées et/ou affectées. (Codex – Évaluation des risques microbiologiques).

6. Veuillez donner une brève description des quatre étapes de l'évaluation des risques (identification des dangers, caractérisation des dangers, évaluation de l'exposition et caractérisation des risques) signalées par le Codex, en indiquant les sources pertinentes.

M. Boisseau

92. La brève description suivante des quatre étapes de la procédure d'évaluation des risques est donnée pour ce qui concerne les résidus de médicaments vétérinaires susceptibles de se trouver dans les aliments d'origine animale. Ces quatre étapes sont: 1) l'identification des dangers; 2) la caractérisation des dangers; 3) l'évaluation de l'exposition; 4) la caractérisation des risques.

93. L'objectif de l'identification des dangers est 1) d'identifier tous les résidus des médicaments vétérinaires à l'étude susceptibles de poser des problèmes de santé aux consommateurs. Les résidus jugés préoccupants, dans le cas d'un médicament vétérinaire, comprennent non seulement le composé d'origine mais aussi tous les métabolites pharmacologiquement actifs qui en dérivent; 2) de déterminer les concentrations de tous ces résidus dans les différents tissus comestibles et dans les produits obtenus à partir des animaux traités par le médicament vétérinaire; 3) de déterminer l'évolution dans le temps des concentrations de tous ces résidus dans les différents tissus comestibles et dans les produits obtenus à partir des animaux traités par le médicament vétérinaire; 4) d'identifier le résidu marqueur à utiliser pour effectuer un suivi des résidus afin de s'assurer que les concentrations de résidus présentes dans les produits obtenus à partir de ces animaux et destinés à l'alimentation humaine ne dépassent pas les LMR établies pour le médicament vétérinaire.

94. L'objectif de la caractérisation des dangers est d'effectuer une évaluation qualitative et quantitative de tous les effets néfastes associés aux résidus des médicaments vétérinaires qui sont susceptibles d'avoir une incidence négative sur la santé des consommateurs ou sur l'environnement. Un élément important de cette étape consiste à vérifier s'il est ou non possible d'établir une relation dose-effet et un seuil qui représente la quantité de résidus en deçà de laquelle on ne peut s'attendre à aucun effet adverse pour la santé des consommateurs. L'objectif de cette étape est, si possible, d'établir une dose sans effet indésirable observé (DSEIO) à partir de la base des données scientifiques disponibles, et d'en tirer une dose journalière admissible (DJA) en appliquant un facteur de sécurité approprié dont la valeur dépend du profil toxicologique des résidus. La DSEIO est la quantité la plus élevée du médicament vétérinaire en question qui n'a été associée à aucun effet indésirable au cours des essais de toxicité effectués sur des animaux ou des études menées sur des personnes humaines. La DJA représente la quantité maximale des résidus jugés préoccupants du médicament vétérinaire examiné qui peut être ingérée quotidiennement par les consommateurs pendant toute leur vie sans aucun risque pour leur santé. Les DSEIO et les DJA sont exprimées en µg/kg/jour.

95. L'objectif de l'évaluation de l'exposition est d'évaluer quantitativement l'exposition aux résidus des médicaments vétérinaires examinés à laquelle sont soumis les consommateurs du fait de la consommation d'aliments d'origine animale. Cette exposition est définie grâce à un assortiment alimentaire type, déterminé par le JECFA, et comprenant principalement 500 g de muscles, 100 g de foie, 50 g de graisse, 1,5 l de lait et 100 g d'œufs.

96. En termes généraux, le but de la caractérisation des risques est d'évaluer qualitativement et quantitativement la probabilité et la gravité d'un danger particulier pour une population humaine exposée à ce danger. Cette évaluation se fonde sur les conclusions des trois étapes précédentes: identification des dangers, caractérisation des dangers et évaluation de l'exposition. Dans le cas précis des résidus de médicaments vétérinaires, cette étape n'existe pas dès lors que l'objet de l'analyse des risques pour ces composés n'est pas d'évaluer qualitativement et quantitativement la probabilité et la gravité des effets indésirables des résidus de médicaments vétérinaires sur la santé des consommateurs qui y sont exposés par le biais des aliments d'origine animale, mais de protéger la santé des consommateurs contre tout effet indésirable associé à ces résidus. Pour ce faire, des LMR sont établies, lorsque cela est possible. Les LMR représentent les concentrations les plus élevées des résidus jugés préoccupants, dont la présence, dans les différents tissus et produits comestibles provenant des animaux traités par le médicament vétérinaire à l'examen, peut être acceptée sans que la quantité de résidus ingérée quotidiennement par les consommateurs dépasse la DJA établie.

L'établissement de limites maximales de résidus, qui vise à apporter une protection efficace de la santé du consommateur, est donc une composante de la gestion des risques. Dès lors, lorsqu'il propose des LMR au CCRVDF, le JECFA intervient également dans l'un des volets de la gestion des risques de la procédure d'analyse des risques. Toutefois, étant donné que ces limites maximales de résidus doivent être adoptées par le Codex (CCRVDF et Commission), c'est à celui-ci, en même temps qu'aux États membres, qu'incombe la responsabilité de la gestion des risques.

M. Boobis

Quatre étapes de l'évaluation des risques

97. Les quatre étapes de l'évaluation des risques sont décrites ci-dessous (*PISC (2004). Risk Assessment Terminology*):

Identification des dangers

98. Identification du type et de la nature des effets néfastes qu'un agent a la capacité intrinsèque d'occasionner dans un organisme, un système ou une (sous-)population. Il s'agit des propriétés toxicologiques intrinsèques du composé.

Caractérisation des dangers

99. Description qualitative et, chaque fois que cela est possible, quantitative de la propriété intrinsèque d'un agent ou d'une situation susceptible d'occasionner des effets néfastes. Cette description doit, autant que possible, inclure une évaluation de la relation dose-réponse et les incertitudes inhérentes à cette évaluation. Elle implique en outre que l'on détermine s'il existe ou non un seuil pour l'effet toxicologique, c'est-à-dire une dose en deçà de laquelle il ne se produit aucun effet.

Évaluation de l'exposition

100. Évaluation qualitative et/ou quantitative de l'ingestion probable d'agents biologiques, chimiques et physiques par le biais des aliments ainsi que par suite de l'exposition à d'autres sources, le cas échéant (*Commission du Codex Alimentarius, 2005*).

Caractérisation des risques

101. Détermination qualitative et, chaque fois que cela est possible, quantitative, compte tenu des incertitudes inhérentes à l'évaluation, de la probabilité de la fréquence des effets néfastes connus ou potentiels d'un agent sur un organisme, un système ou une (sous-)population donnés, dans des conditions d'exposition définies.

M. Guttenplan

102. L'identification des dangers s'entend de l'identification des agents biologiques, chimiques et physiques susceptibles de provoquer des effets adverses pour la santé et qui peuvent être présents dans un aliment donné ou un groupe d'aliments. Elle s'intéresse à la détection d'agents susceptibles d'être nocifs. La caractérisation des dangers s'entend de l'évaluation qualitative et/ou quantitative de la nature des effets adverses pour la santé associés au danger. L'évaluation de l'exposition s'entend de l'évaluation qualitative et/ou quantitative de l'ingestion probable d'agents biologiques, chimiques et physiques par le biais des aliments, ainsi que par suite de l'exposition à d'autres sources, le cas échéant. Elle a essentiellement pour objet d'estimer la quantité de l'agent à laquelle les individus ou les populations sont exposés. La caractérisation des risques s'entend du processus consistant à

déterminer l'estimation qualitative et/ou quantitative, compte tenu des incertitudes inhérentes à l'évaluation, de la probabilité de la fréquence et de la gravité des effets adverses connus ou potentiels sur la santé susceptibles de se produire dans une population donnée, sur la base de l'identification des dangers, de la caractérisation des dangers et de l'évaluation de l'exposition. Par exemple, le risque de cancer du poumon est de un sur dix chez les fumeurs. (Codex – Évaluation des risques microbiologiques).

7. **Veuillez formuler des observations concernant la déclaration des CE figurant au paragraphe 140 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, selon laquelle "quelle que soit la méthode d'évaluation des risques suivie, toutes sont fondées sur une approche déterministe de la caractérisation des risques, et présentent de sérieuses limitations dans des situations non linéaires, comme dans le cas présent en ce qui concerne les hormones". À votre avis, l'orientation actuellement proposée par la Commission du Codex Alimentarius en matière d'évaluation des risques apporte-t-elle une solution à ces situations? Les évaluations de risques concernant les hormones en cause, effectuées par le JECFA en 1988 et 1999, étaient-elles adaptées à ces situations? [voir les observations du Canada, au paragraphe 72 de sa communication présentée à titre de réfutation]**

M. Boisseau

103. La déclaration des CE figurant au paragraphe 140 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, selon laquelle "quelle que soit la méthode d'évaluation des risques suivie, toutes sont fondées sur une approche déterministe de la caractérisation des risques (le niveau d'exposition est proportionnel au niveau du risque pour un danger donné) et (de ce fait) présentent de sérieuses limitations dans des situations non linéaires, comme dans le cas présent en ce qui concerne les hormones" fait référence à l'effet génotoxique de l'œstradiol-17 β et indique que, de l'avis des CE, il ne devrait pas être fixé de seuil pour cette hormone. Cette situation est abordée dans les orientations concernant l'évaluation des risques, qui font actuellement l'objet de débats au sein du CCRVDF. Lors de l'évaluation de l'œstradiol-17 β , en 1987 et 1999, aucune orientation concernant l'évaluation des risques n'était disponible sur cette question. Néanmoins, le JECFA était parfaitement conscient des situations non linéaires de ce type. Ainsi, en 1987 et 1989, bien que les bases de données pertinentes aient été incomplètes, le JECFA a estimé que pour des composés comme le Chloramphénicol, associé à l'anémie aplasique, et les composés génotoxiques de la classe des nitroimidazoles, comme le Dimétridazole et le Ronidazole, il n'était pas possible d'établir une relation dose-effet, et décidé de fonder ses conclusions sur une évaluation qualitative des risques, à la suite de quoi le JECFA n'a pas recommandé de DJA pour ces composés.

104. Au cours de sa 32^{ème} réunion, en 1987, le JECFA n'a pas abordé ce type de situation non linéaire pour l'œstradiol-17 β car il avait conclu que l'effet tumorigène associé à ce composé était lié à son activité hormonale et qu'il était donc possible, dans ce cas, d'envisager un seuil.

105. S'il est vrai qu'en 1999, la 52^{ème} réunion du JECFA a admis que l'œstradiol-17 β possédait un "potentiel génotoxique", elle a néanmoins conclu que la cancérogénicité de l'œstradiol-17 β provenait probablement de l'interaction de ce produit avec les récepteurs hormonaux. De ce fait, le JECFA n'a pas pris en considération la situation non linéaire dans son évaluation des risques et a décidé de confirmer ses conclusions de 1987 en fixant une DJA de 0 à 0,05 μ g/kg de poids corporel.

M. Boobis

Évaluation déterministe des risques

106. Cette question présuppose un résultat spécifique de l'évaluation des risques, à savoir qu'il n'existe pas de seuil pour les effets toxicologiques des hormones. L'évaluation des risques du JECFA a abouti à la conclusion que la relation dose-réponse pour tous les critères d'évaluation était non linéaire et qu'il existait une dose seuil au-dessous de laquelle il n'y avait aucun risque appréciable en cas d'exposition au produit pendant toute une vie. Dès lors, une approche déterministe, mettant en jeu l'établissement de doses journalières admissibles, était appropriée, conformément aux procédures appliquées par le Comité. Si le Comité avait conclu que la relation dose-réponse était linéaire et qu'il n'y avait pas de dose au-dessous de laquelle il n'existait pas de risque appréciable, deux options se seraient présentées. La première aurait été de refuser d'établir une DJA au motif qu'aucune exposition ne serait acceptable. La deuxième aurait consisté à établir une marge d'exposition au-dessous de laquelle les expositions auraient été considérées comme posant un risque minimal (bien que non nul). Une approche de ce type a été formalisée récemment (*PISC (2005). Draft ECH, Principles for Modelling Dose-Response for the Risk Assessment of Chemicals, OMS, Genève, Suisse*) et a été utilisée par le JECFA pour évaluer certains contaminants en 2005 (*JECFA (2006b). Evaluation of Certain Food Contaminants, Série de Rapports techniques de l'OMS, 930, OMS, Genève*). En pratique, dans la mesure où les résidus de médicaments vétérinaires présents dans les aliments peuvent être évités par la non-utilisation du médicament, il est probable que le Comité aurait refusé d'établir une DJA.

- 8. Veuillez décrire la procédure suivie par le JECFA pour fixer des doses journalières admissibles et élaborer des recommandations en matière de limite maximale de résidus. Veuillez signaler et décrire les éventuelles mesures prises au cours du processus d'évaluation des risques pour incorporer une marge de sécurité dans la recommandation finale.**

M. Boisseau

107. La procédure suivie par le JECFA pour établir des DJA et recommander des LMR comprend trois étapes.

108. Établissement d'une dose sans effet indésirable observé (DSEIO). Cette DSEIO est établie après que le JECFA a examiné les données obtenues à partir de toutes les études de toxicité *in vivo* réalisées sur des animaux de laboratoire, et de toutes les études épidémiologiques et observations effectuées sur des personnes humaines. Le JECFA tient compte, en outre, de tous les essais *in vitro* disponibles, tels que des batteries d'essais de mutagénicité, qui pourraient permettre de mieux appréhender le mécanisme d'action des effets toxicologiques du médicament vétérinaire examiné. Pour chacune de ces études, à l'exception des essais *in vitro*, le JECFA établit une DSEIO, c'est-à-dire la dose la plus élevée du médicament vétérinaire examiné qui n'est pas associée à l'observation d'un effet indésirable sur l'homme ou les animaux. Après avoir examiné l'ensemble de ces études, le JECFA adopte, parmi les différentes DSEIO, la dose définitive qui, après application d'un facteur de sécurité approprié, conduira à la DJA la plus prudente, c'est-à-dire la moins élevée.

109. Établissement d'une DJA (dose journalière admissible) chez l'homme. La DJA est la quantité maximale de résidus du médicament vétérinaire examiné qui peut être ingérée journalièrement par les consommateurs pendant toute leur vie par le biais d'aliments d'origine animale, sans poser de problème de santé. Le JECFA calcule cette DJA en affectant la DSEIO d'un facteur de sécurité. La valeur de ce facteur de sécurité dépend de la nature de l'effet toxique associé à la DSEIO adoptée en définitive par le JECFA. Si la DSEIO a été définie à partir d'une étude toxicologique réalisée sur un animal de laboratoire, la valeur du facteur de sécurité est généralement de 100 dans la mesure où elle

combine deux facteurs de 10. Le premier facteur de sécurité correspond à l'extrapolation à l'homme des résultats de l'étude sur cet animal de laboratoire, car on estime, pour des raisons de prudence, que l'homme peut être dix fois plus sensible à l'effet toxique que l'animal de laboratoire sur lequel a été effectuée l'étude. Le deuxième facteur de 10 prend en compte la diversité de la population humaine, due au sexe, à l'âge, à la race, qui peut entraîner des variations de la sensibilité à l'égard de l'effet toxique considéré. Si l'on considère que l'effet toxique associé à la DSEIO finalement adoptée par le JECFA est grave mais reste toutefois compatible avec une situation linéaire et l'établissement d'un seuil, la valeur allouée au facteur de sécurité peut être plus élevée et atteindre 1 000. En revanche, si l'effet indésirable associé à la DSEIO adoptée en définitive par le JECFA provient uniquement d'observations réalisées sur des personnes humaines, la valeur du facteur de sécurité, dans le cas par exemple d'un effet physiologique réversible, peut être de 10. En conclusion, la valeur d'une DJA est généralement 100 fois plus faible que celle de la DSEIO correspondante, mais peut aussi être beaucoup plus faible.

110. Proposition de LMR (limites maximales de résidus) Dans la mesure où la DJA est le paramètre ultime de la procédure d'évaluation des risques, il est nécessaire de disposer d'un outil opérationnel qui permette, de manière pratique, d'être sûr que la DSEIO ne sera pas dépassée. C'est la raison pour laquelle sont établies des LMR, dont la définition a été donnée dans ma réponse à la question n° 6. Ces LMR donnent aux laboratoires d'analyse la possibilité de vérifier que les quantités de résidus du médicament vétérinaire examiné présentes dans les aliments d'origine animale n'entraînent pas un dépassement des doses journalières admissibles établies. Pour établir ces LMR pour tous les différents tissus et produits comestibles provenant des animaux traités à l'aide du médicament vétérinaire à l'examen, le JECFA fait appel à une estimation très prudente de la consommation humaine de ces tissus et produits, ce qui constitue un important facteur de sécurité supplémentaire. Cet assortiment alimentaire type a déjà été décrit dans ma réponse à la question n° 6. Ainsi, les LMR sont calculées de telle manière que les quantités de résidus qui sont susceptibles d'être ingérées chaque jour conformément à cette consommation théorique des aliments d'origine animale ne dépassent pas la valeur de la DJA correspondante. En outre, lorsqu'il n'est pas possible, pour un médicament vétérinaire à l'étude, d'identifier et de quantifier tous les résidus associés avec l'effet toxique jugé préoccupant, le JECFA introduit un facteur de sécurité additionnel en estimant que tous les résidus issus de ce médicament vétérinaire possèdent la même toxicité potentielle. Par ailleurs, tous les résidus dont la non-biodisponibilité après ingestion orale n'est pas avérée sont classés parmi les résidus jugés préoccupants. Cela est particulièrement important pour les trois hormones naturelles dont la biodisponibilité par voie orale est faible.

111. En résumé, pour établir une marge de sécurité dans ses recommandations finales, le JECFA incorpore, à différentes étapes de son évaluation des risques, les facteurs de sécurité suivants:

- 1) établissement de doses journalières admissibles: l'homme est dix fois plus sensible que les animaux pris en compte dans les essais de toxicité les plus sensibles; certaines personnes peuvent être dix fois plus sensibles que d'autres à l'effet toxique concerné; la valeur du facteur de sécurité peut être augmentée en cas d'effets néfastes graves;
- 2) évaluation de l'exposition: la consommation humaine des aliments d'origine animale est définitivement surestimée;
- 3) établissement de limites maximales de résidus: tous les résidus pour lesquels il n'est pas clairement démontré qu'ils ne sont pas associés à l'effet toxique sur lequel est fondée la DJA sont considérés comme étant aussi toxiques que le métabolite responsable de l'effet toxique en cause. Tous les résidus pour lesquels il n'est pas clairement démontré qu'ils ne sont pas biodisponibles par voie orale sont également inclus dans la dose journalière des résidus jugés préoccupants.

M. Boobis

Procédure appliquée par le JECFA pour établir les doses journalières admissibles et les limites maximales de résidus

112. La procédure qu'a adopté le JECFA pour établir des doses journalières admissibles est celle qui est exposée en termes généraux dans les lignes directrices relatives aux principes de l'évaluation des risques (*Commission du Codex Alimentarius (2005)*; voir également ma réponse à la question n° 3, ci-dessus). Plus précisément, l'identification des dangers a fait intervenir un examen systématique d'études réalisées sur des animaux d'expérience, d'études sur des humains lorsqu'elles étaient disponibles, ainsi que d'études *in vitro* suivant le cas. L'importance de celles-ci était variable selon l'hormone: elle était plus élevée dans le cas des hormones naturelles que pour les hormones de synthèse. Les études sur les humains comprenaient des recherches épidémiologiques, des essais cliniques et des études expérimentales. Cette évaluation a permis d'identifier l'étendue des effets des composés. Pendant l'étape de caractérisation des dangers, le mode d'action et la courbe dose-réponse correspondant aux critères toxicologiques d'évaluation ont été déterminés, dans la mesure du possible. La compréhension du mode d'action a permis de mieux interpréter la relation entre la dose et la réponse. En conséquence, une fois que le Comité a conclu, compte tenu du poids de la preuve, que les effets cancérogènes observés étaient très probablement causés par un mode d'action endocrinien, il est devenu légitime de définir un seuil dans la relation dose-réponse. L'analyse des données a permis de déterminer la dose à laquelle aucun effet n'a pu être observé (DSEIO) pour chaque critère d'évaluation, ou, sinon, de définir la dose minimale ayant un effet indésirable observé (DMEIO). Ces données ont servi de point de départ au calcul des DJA. Afin de tenir compte des variations attribuables à une sensibilité (dynamique) ou à une cinétique différentes entre les individus, un facteur de 10 a été appliqué. Lors de l'extrapolation à l'homme des études réalisées sur les animaux d'expérience, un nouveau facteur de 10 a été appliqué pour tenir compte des éventuelles différences interspécifiques en matière de dynamique et de cinétique. En cas d'attribution d'une DMEIO, un facteur additionnel pouvant aller jusqu'à 10 a été appliqué, en fonction de l'espacement des doses, de la forme de la courbe dose-réponse aux doses dépassant la DMEIO et de l'intensité de la réponse. Enfin, s'il existait un sous-groupe identifiable pouvant raisonnablement être considéré comme plus sensible que le groupe dans lequel les données avaient été obtenues, par exemple un groupe d'enfants par rapport à des adultes, un facteur supplémentaire a été appliqué. L'évaluation de l'exposition a été fondée sur la détermination des résidus présents dans des tissus comestibles à la suite d'essais contrôlés sur des bovins d'élevage. En cas d'utilisation du marquage radioactif, sauf preuve du contraire, tout matériel radioactif a été considéré comme étant le composé d'origine et comme étant biologiquement actif (cas, par exemple, de l'acétate de mélangestrol (voir *JECFA (2000a). Residues of Some Veterinary Drugs in Foods And Animals, FAO Food and Nutrition Paper 41/13, FAO, Rome*). Il s'agit d'une hypothèse de prudence dans la mesure où quelques-unes ou même la plupart des substances identifiées à l'aide d'un marqueur radioactif sont souvent des métabolites biologiquement moins actifs ou inactifs (voir *JECFA (2004). Residues of Some Veterinary Drugs in Foods And Animals, FAO Food and Nutrition Paper 41/16, FAO, Rome*). Une relative prudence a également été de règle dans le choix des chiffres de la consommation alimentaire standard pour différents segments de la population. Ces données ont permis d'obtenir une prévision de l'exposition des grands consommateurs, c'est-à-dire de l'apport journalier maximal théorique (AJMT). Au cours de la caractérisation des risques, la comparaison entre l'exposition estimée (AJMT) et la DJA a permis de définir si une exposition aux doses prévues pendant toute la vie pouvait être associée à un risque appréciable d'effets indésirables. Cette estimation a été effectuée pour différentes tranches d'âge au sein de la population. Pour toutes les hormones à l'étude, la dose journalière estimée était largement inférieure à la DJA et une utilisation conforme aux bonnes pratiques vétérinaires n'entraînerait donc pas de risque appréciable. Les mesures prises pour incorporer une marge de sécurité dans la procédure ont été indiquées ci-dessus. Toutefois, il est important de mettre l'accent sur certaines d'entre elles: l'évaluation des risques est fondée sur le critère d'évaluation le plus sensible et suppose une consommation élevée pendant la vie; en outre, elle suppose souvent que tous les résidus sont

aussi actifs que le composé d'origine; les facteurs de sécurité implicites utilisés sont généralement définis avec prudence.

9. **Veuillez confirmer la déclaration suivante du Canada ou formuler des observations à son sujet: "il est reconnu que le JECFA attribue seulement une DJA pour un additif alimentaire ou un médicament vétérinaire à l'examen lorsqu'il estime que la base de données scientifiques est complète et qu'il n'y a pas de questions scientifiques en suspens". [voir le paragraphe 68 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]**

M. Boisseau

113. La déclaration du Canada selon laquelle "il est reconnu que le JECFA attribue seulement une DJA pour un additif alimentaire ou un médicament vétérinaire à l'examen lorsqu'il estime que la base de données scientifiques est complète et qu'il n'y a pas de questions scientifiques en suspens" est exacte.

M. Boobis

Influence de l'exhaustivité de la base de données scientifiques sur l'établissement d'une DJA

114. Je qualifierais la déclaration selon laquelle "il est reconnu que le JECFA attribue seulement une DJA pour un additif alimentaire ou un médicament vétérinaire à l'examen lorsqu'il estime que la base de données scientifiques est complète et qu'il n'y a pas de questions scientifiques en suspens" de la manière suivante: cela est certainement le cas, en général, mais il existe des exceptions. Le problème déterminant est de savoir si une dose implicite suffisamment prudente peut être adoptée en l'absence de certains renseignements. Il est possible, par exemple, qu'une étude ne signale pas de DSEIO mais qu'il soit jugé acceptable de définir une DMEIO en appliquant un facteur de sécurité supplémentaire de 10. De façon similaire, il est possible que la nature des résidus ne soit pas parfaitement définie et que l'on décide alors que les résidus dans leur ensemble sont aussi actifs que leur portion la plus active, qui est souvent le composé d'origine. Dans la mesure où une partie des résidus est composée de métabolites moins actifs ou inactifs, cette supposition est généralement prudente. C'est pourquoi le JECFA exige une base de données complète, à moins qu'il ne puisse adopter des hypothèses implicites susceptibles de conduire à une évaluation des risques encore plus modérée qu'elle ne le serait autrement.

10. **Aux paragraphes 129 et 168 de leurs réponses aux questions posées par le Groupe spécial, les Communautés européennes déclarent que "selon son mandat habituel, le JECFA n'est pas autorisé à examiner toutes les options de gestion des risques disponibles mais doit se borner à proposer ou à ne pas proposer des LMR". Le Codex dispose-t-il, en matière de gestion des risques, d'autres options que 1) de fixer une LMR, 2) d'établir qu'aucune LMR n'est nécessaire ou 3) de ne formuler aucune recommandation?**

M. Boisseau

115. Comme je l'ai déjà écrit dans mes réponses aux questions n° 5 et n° 6, le JECFA est responsable uniquement de mener l'évaluation des risques, et le Codex est chargé de la gestion des risques. Toutefois, le JECFA intervient aussi, en partie, dans la gestion des risques lorsqu'il propose des LMR au Codex. À ma connaissance, en ce qui concerne les résidus de médicaments vétérinaires, le Codex n'a aucune autre option de gestion des risques que 1) de fixer une LMR, 2) d'établir qu'aucune LMR n'est nécessaire, ou 3) de ne formuler aucune recommandation.

116. Néanmoins, comme je l'ai déjà mentionné dans ma réponse à la question n° 7, lorsque le JECFA a décidé qu'il n'était pas possible de proposer une DJA pour le chloramphénicol et les composés de la classe des nitroimidazoles, il a suggéré que des efforts devaient être mis en œuvre pour remplacer ces médicaments vétérinaires ou en prohiber l'usage.

11. À votre avis, quels devraient être les volets d'une évaluation qualitative des risques, par rapport à une évaluation quantitative des risques? [voir le paragraphe 82 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]

M. Boisseau

117. Une évaluation qualitative des risques devrait comporter les volets suivants: 1) identification des dangers, 2) caractérisation des dangers et 3) évaluation qualitative de l'exposition. Une évaluation qualitative des risques peut être appliquée à un médicament vétérinaire s'il a été démontré que 1) selon l'étape d'identification des dangers, ce médicament laisse des résidus dans les aliments d'origine animale, 2) selon l'étape de caractérisation des dangers, certains de ces résidus sont responsables d'un effet indésirable a) qui, comme la génotoxicité, ne peut pas être associé à une relation dose-effet, b) qui peut s'exprimer chez l'homme c) pour lequel il n'est pas possible d'établir un seuil en deçà duquel une quantité, même très réduite, des résidus ne peut pas générer cet effet indésirable chez les humains, 3) selon l'étape d'évaluation de l'exposition, il est probable que des consommateurs ingéreront ces résidus par le biais d'aliments d'origine animale.

118. Comme je l'ai déjà signalé dans ma réponse à la question n° 7, le JECFA a fondé ses conclusions sur une telle évaluation qualitative des risques pour le chloramphénicol, le dimétrimidazole et le ronidazole, et n'a pas recommandé de DJA pour ces composés.

M. Boobis

Évaluation qualitative et évaluation quantitative

119. Selon le paradigme d'évaluation des risques, il n'est pas approprié de mener une évaluation qualitative des risques *a priori*. La raison en est qu'une évaluation de ce type exige une connaissance, expérimentale ou conjecturale, des dangers et du mode d'action. Par conséquent, une évaluation qualitative pourrait être mise en œuvre après une évaluation classique au moins partielle des risques, lorsqu'il serait apparent, ou que l'on estimerait, qu'il n'est pas d'exposition susceptible de ne générer aucun risque et qu'il est, dès lors, impossible de fixer une dose ne présentant pas de danger (une DJA).

120. Une évaluation qualitative des risques doit donc comprendre les quatre étapes du paradigme classique d'évaluation des risques, mais avec certaines différences. L'identification des dangers est encore nécessaire, ainsi qu'une certaine forme de caractérisation des dangers. Lors de la caractérisation des dangers, le mode d'action doit être déterminé par des considérations mécanistes, si cela est possible, et son importance éventuelle en ce qui concerne le risque pour l'homme doit être prise en compte. Lorsqu'il est impossible d'établir le mode d'action, on doit supposer, en l'absence de preuve du contraire, que le risque concerne l'homme. Certains modes d'action sont considérés comme ne présentant pas de seuil fondé sur le danger intrinsèque (génotoxicité des agents réagissant avec l'ADN, notamment). Pour les composés qui présentent de telles propriétés, on suppose qu'il n'existe pas de seuil pour la réponse. Dans ces circonstances, une pratique très répandue, notamment à l'OMS et dans l'Union européenne, consiste à estimer qu'il n'est pas approprié de calculer une valeur guide fondée sur des critères sanitaires (la DJA), dès lors que n'importe quelle exposition est réputée présenter un risque. La nécessité d'une analyse détaillée de la relation dose-réponse serait discutable. Pourtant, l'évaluation des risques, contrairement à leur gestion, exige de faire preuve de rigueur scientifique. C'est pourquoi le fait de conclure que l'exposition est sans importance en raison de la nature de l'effet constitue une décision relevant de la gestion des risques. S'agissant de l'évaluation

des risques, même si l'établissement d'une DJA est considéré comme inapproprié, une estimation de la marge d'exposition permettrait de déterminer l'importance probable du risque et constituerait donc une indication très utile pour les gestionnaires de risques. Cette mesure exigerait une évaluation de l'exposition. Il serait ainsi possible d'analyser le risque relatif, par rapport à l'exposition naturelle, en particulier pour les composés qui sont produits de manière endogène. Enfin, la caractérisation des risques serait nécessaire pour examiner la pertinence pour l'homme des observations expérimentales. Il peut exister des facteurs cinétiques ou dynamiques permettant d'affirmer que, même si, en théorie, aucune exposition ne présente un risque nul, dans la pratique ce risque serait minimal et donc acceptable (voir, par exemple, l'avis du groupe scientifique PPR sur le daminozide qui a contribué à la décision de l'Union européenne d'approuver l'inclusion du composé sur la liste de l'annexe 1 (*PPR (2004). Opinion of the PPR Panel related to the evaluation of daminozide in the context of Council Directive 91/414/EEC (May 2004) (http://www.efsa.eu.int/science/ppr/ppr_opinions/453_en.html; Official Journal L 241, 17/09/2005 P. 0051 – 0056)*)).

M. Cogliano

121. Les volets de l'évaluation qualitative des risques sont: 1) l'examen critique des informations scientifiques pertinentes relatives à un agent, et 2) l'évaluation du poids de la preuve indiquant que l'agent est susceptible de modifier le risque d'effet(s) indésirable(s).

122. Le paragraphe 82 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation semble manquer de clarté en ce qui concerne le rôle de l'analyse de la relation dose-réponse dans une évaluation qualitative. Une évaluation qualitative des risques peut tenir compte de la présence ou de l'absence de relation dose-réponse pour évaluer les données épidémiologiques et expérimentales. C'est de cette manière, par exemple, que les monographies du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) évaluent la possibilité qu'un agent modifie l'incidence du cancer chez l'homme. Cela n'a rien à voir avec l'estimation de la dose de l'agent susceptible de produire un effet indésirable d'une intensité spécifique. Cette procédure fait partie de l'évaluation quantitative des risques et on peut la considérer comme une activité distincte de l'évaluation qualitative.

12. De quelle manière est abordée l'incertitude scientifique dans les évaluations de risques, en général? S'agissant de l'évaluation des risques découlant de la consommation de viande traitée aux hormones de croissance en cause, comment l'incertitude scientifique a-t-elle été prise en considération par le JECFA/le Codex? Comment diffère cette approche de celle qu'ont adoptée les Communautés européennes dans leur évaluation des risques découlant de la consommation de viande traitée aux hormones de croissance en cause?

M. Boisseau

123. Dans l'évaluation du risque pour la santé humaine découlant de l'exposition à des résidus de médicaments vétérinaires, le JECFA tient compte de l'incertitude scientifique en introduisant les facteurs de sécurité dont la liste a été donnée dans ma réponse à la question n° 8, ci-dessus, où est décrite entre autres choses la manière dont le JECFA intègre une marge de sécurité dans ses recommandations définitives.

124. S'agissant des activateurs de croissance hormonaux, le JECFA a estimé que, compte tenu de la qualité et de la quantité des données disponibles, il était possible d'effectuer une évaluation quantitative complète des risques. Pour établir des doses journalières admissibles et des limites maximales de résidus des trois hormones de synthèse, le mélangestrol, la trenbolone et le zéranol, le JECFA a appliqué la procédure habituelle concernant les facteurs de sécurité. Pour les trois hormones naturelles, l'oestradiol-17 β , la progestérone et la testostérone, le JECFA a décidé que la marge de

sécurité donnée par les valeurs des DJA établies et un apport estimé maximal de résidus était telle qu'il n'était pas nécessaire de fixer des LMR.

125. Pour l'œstradiol-17 β , les Communautés européennes n'ont pris en considération aucune incertitude scientifique, puisqu'elles ont décidé qu'il n'était pas possible, pour des raisons de principe, d'établir une DJA pour un composé génotoxique. Pour les cinq autres hormones en cause, les Communautés européennes n'ont à vrai dire tenu compte d'aucune incertitude scientifique dans la mesure où elles ont décidé que les données disponibles, trop limitées, ne permettaient pas d'effectuer une évaluation quantitative complète des risques.

M. Boobis

Traitement de l'incertitude scientifique dans l'évaluation des risques

126. L'incertitude scientifique est traitée de diverses manières dans l'évaluation des risques. On trouvera une description de certains des problèmes posés, dans le projet de rapport du groupe de travail sur la variabilité et l'incertitude en toxicologie (VUT), constitué par le Comité de toxicité des substances chimiques présentes dans les aliments, les produits de consommation et l'environnement (COT) du Royaume-Uni, à l'adresse <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/vutdraftreport.pdf>.

127. Une manière de tenir compte de l'incertitude est de choisir systématiquement le cas le plus défavorable en l'absence de toute preuve du contraire. De ce fait, l'évaluation des risques se fonde sur le critère d'évaluation pertinent le plus sensible appliqué à l'espèce la plus sensible. En extrapolant à l'homme, un facteur implicite de 10 est appliqué pour tenir compte des différences interspécifiques, ce qui suppose que l'homme est plus sensible que les espèces expérimentales. Un nouveau facteur de 10 est ajouté pour tenir compte des différences entre les individus. Ces différences peuvent être dues au sexe, à des aspects génétiques, à l'étape du cycle de vie ou à d'autres facteurs. Dans une certaine mesure néanmoins, elles ont déjà été prises en considération lors du choix du critère d'évaluation, puisque les données proviennent des espèces les plus sensibles et représentent l'étape du cycle de vie, le sexe et, jusqu'à un certain point, les aspects génétiques les plus sensibles. Lorsqu'il existe des incertitudes supplémentaires, telles que l'absence d'une DSEIO ou d'une étude non essentielle, un facteur de sécurité additionnel est appliqué. Ce facteur est en général une mesure de précaution; en effet, le facteur de sécurité approprié, appliqué après réception des données manquantes, est presque toujours inférieur à celui qui avait été fixé en tenant compte des lacunes. On peut supposer que les résidus dans leur ensemble sont aussi actifs que leur portion la plus active, ce qui est habituellement une supposition prudente. L'apport nutritionnel est fondé sur des données raisonnables en matière de consommation alimentaire. On suppose également que toutes les viandes susceptibles de contenir des résidus de médicaments vétérinaires contiennent effectivement les résidus, et que ceux-ci sont présents en quantités proches des limites supérieures (LMR ou autre selon le cas). En ce qui concerne la DJA, la supposition est que la dose se maintient à un niveau élevé pendant toute la vie, alors qu'en réalité, la consommation de viande est occasionnellement faible ou nulle, et la viande consommée contient parfois une quantité de résidus inférieure à l'estimation, ou même nulle. Lors de l'évaluation des risques associés aux hormones, le JECFA a appliqué toutes ces méthodes pour tenir compte de l'incertitude.

128. Le traitement donné à l'incertitude scientifique dépend en grande partie de la compétence de l'évaluateur des risques. Des aspects tels que la cohérence biologique, la question de savoir si les effets proviennent ou non du composé, la pertinence pour l'homme, la fiabilité des systèmes de modélisation dans la prévision des effets *in vivo*, ont tous une incidence sur l'interprétation des données. Au sein de l'Union européenne, il apparaît clairement que des différences existent aussi dans l'interprétation des données, comme l'illustrent les différences entre les conclusions du Comité des médicaments vétérinaires – CMV (1999) et celles du Comité scientifique des mesures vétérinaires en rapport avec la santé publique – CSMVSP (1999). Si les CE n'ont pas inclus certaines des

considérations du JECFA en matière d'incertitude dans leur évaluation des hormones, c'est en partie parce qu'elles ont jugé que les informations étaient insuffisantes pour déterminer l'existence d'un seuil pour les effets cancérogènes. Toutefois, pour certains composés, cette position était fondée sur les résultats d'un nombre réduit de tests non standard de génotoxicité pour lesquels des réponses ambiguës ou très faibles avaient été obtenues. On ne sait pas bien si les CE ont appliqué une approche basée sur le poids de la preuve tenant compte de la totalité des données disponibles pour évaluer la génotoxicité de tous les composés, comme cela a été le cas pour le JECFA.

CMV (1999). Report of the CVMP on the Safety Evaluation of Steroidal Sex Hormones in particular for 17 β -Oestradiol, Progesterone, Altrenogest, Flugestone acetate and Norgestomet in the Light of New Data/Information made available by the European Commission. EMEA/CVMP/885/99 (<http://www.emea.eu.int/pdfs/vet/srwp/088599en.pdf>)

CSMVSP (1999). Avis du comité scientifique des mesures vétérinaires en rapport avec la santé publique: Évaluation des risques pour la santé humaine liés à la présence de résidus d'hormones dans la viande de bœuf et les produits à base de viande bovine (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out21_en.pdf)

C. ÉVALUATION DE L'ŒSTRADIOL-17B

13. **À votre avis, dans quelle mesure l'évaluation des risques effectuée par les CE détecte-t-elle la possibilité que les résidus d'œstradiol-17 β décelés dans les viandes issues d'animaux auxquels cette hormone a été administrée à des fins anabolisantes, conformément aux bonnes pratiques vétérinaires exercent des effets indésirables, notamment cancérogènes ou génotoxiques, sur la santé humaine? Dans quelle mesure l'évaluation des risques effectuée par les CE évalue-t-elle l'éventuelle apparition de ces effets indésirables?**

M. Boisseau

A. POTENTIEL CANCÉROGÈNE DES RÉSIDUS D'ŒSTRADIOL-17B

129. Il est reconnu à l'échelle internationale que l'œstradiol-17 β a un potentiel cancérogène qui découle de son interaction avec les récepteurs hormonaux.

130. Ainsi, le JECFA a fait observer, lors de sa 52^{ème} session, qui a eu lieu en 1999, que "dans les études à long terme de cancérogénicité chez les animaux, analysées au cours de la 32^{ème} réunion, l'administration orale et parentérale d'œstradiol-17 β a entraîné une augmentation de l'incidence de tumeurs uniquement dans les tissus hormono-dépendants, notamment dans le rein du hamster de Syrie mâle", et a conclu que "la cancérogénicité de l'œstradiol-17 β est très probablement un résultat de son interaction avec des récepteurs hormonaux". Examinant par ailleurs des études épidémiologiques menées sur des femmes traitées aux œstrogènes, seuls ou en association avec des progestogènes et des androgènes, le JECFA a conclu que "les données disponibles semblent indiquer que l'augmentation des cancers du sein et de l'endomètre observée chez les femmes qui ont subi une thérapie postménopausique de substitution de l'œstrogène est due à l'effet hormonal des œstrogènes". En conséquence, le JECFA a jugé approprié de fixer une DSEIO fondée sur les modifications de plusieurs paramètres hormono-dépendants chez les femmes ménopausées et, à partir de cette DSEIO, de calculer une DJA en appliquant deux facteurs de sécurité de 10, le premier pour tenir compte de la variation normale entre les individus, et le deuxième pour protéger les populations humaines sensibles.

131. Dans son rapport de 1999, le CMV a également conclu que les "cancérogènes hormonaux chez l'homme et les animaux expérimentaux se caractérisent 1) par une action tumorigène intéressant

habituellement divers organes et/ou tissus sensibles aux hormones et 2) par la nécessité d'une exposition prolongée à des concentrations élevées avant que les effets tumorigènes n'apparaissent".

132. Dans son rapport de 1999, le CSMVSP a aussi conclu que "s'il est clair que les œstrogènes exogènes, présents dans les contraceptifs oraux ou utilisés dans la thérapie de substitution hormonale chez les femmes, sont responsables d'une augmentation du risque de cancer de l'endomètre et, dans une moindre mesure, d'une certaine augmentation du risque de cancer du sein, il n'y a aucune preuve directe concernant les conséquences de l'apport d'œstradiol-17 β exogène provenant de la consommation de viande traitée".

B. POTENTIEL GÉNOTOXIQUE DES RÉSIDUS D'ŒSTRADIOL-17B

133. Les quantités de substances qu'il est nécessaire d'utiliser dans les études toxicologiques sont, en général, supérieures de très loin aux concentrations de résidus susceptibles de se trouver dans les aliments provenant d'animaux traités à l'aide de médicaments vétérinaires. Si ces études avaient été réalisées sur des doses infimes de substances, telles que celles qui correspondent aux concentrations de résidus dans les aliments, elles auraient invariablement abouti à des résultats négatifs. C'est pour cette raison que ces études sont pratiquement toujours effectuées sur les substances d'origine et non sur les résidus, et que l'on suppose que ceux-ci possèdent le même potentiel toxicologique que les substances d'origine. Quant aux tests de génotoxicité, ils sont mis en œuvre principalement pour comprendre le mécanisme des effets cancérogènes, si tant est qu'ils existent, de la substance examinée. Même les tests *in vivo* (car c'est évident pour les études *in vitro*) ne sont pas prévus pour déterminer une relation dose-réponse et fixer un seuil. Par conséquent, lorsque les tests de génotoxicité donnent des résultats positifs, il est seulement possible de conclure que le caractère génotoxique de la substance d'origine elle-même a été démontré dans les conditions de ces tests, et que les résidus de cette substance, compte tenu de leur très faible concentration dans les aliments d'origine animale, sont également susceptibles de présenter des propriétés génotoxiques.

134. L'ensemble des scientifiques s'accordent actuellement à reconnaître que l'œstradiol-17 β est associé à un effet génotoxique.

135. Par conséquent, tout en admettant que l'œstradiol-17 β ne donne pas des résultats positifs dans tous les tests classiques qui ont été mis en œuvre pour démontrer sa génotoxicité et sa mutagénicité (l'œstradiol-17 β n'a pas causé de mutations géniques *in vitro*, et donne, dans certains autres essais, des résultats positifs sporadiques mais non confirmés), le JECFA a conclu lors de sa 52^{ème} réunion, en 1999, "que l'œstradiol-17 β [était] potentiellement génotoxique".

136. Dans son rapport de 1999, le Comité des médicaments vétérinaires (CMV) de l'Agence européenne des médicaments (EMA) a publié les conclusions suivantes: "les œstradiols et/ou les produits de synthèse analogues sont dépourvus de la capacité d'induire des mutations géniques ou des aberrations chromosomiques *in vitro*". Les études de Rajah et Pento (1995) et de Thibodeau *et al.* (1998) sont considérées comme peu probantes et des expériences additionnelles sont donc nécessaires avant de formuler toute déclaration selon laquelle l'œstradiol-17 β provoquerait une résistance au MTX et/ou des mutations géniques entraînant une déficience de l'enzyme HPRT. Tsutsui et Barret et Tsutsui *et al.* ont émis l'hypothèse que les œstradiols seraient susceptibles de provoquer l'aneuploïdie, suivie d'une transformation maligne, et les études de Abul-Hajj *et al.*, Paquette, et Anderson *et al.* donnent à entendre que l'œstradiol-17 β et/ou ses métabolites causent des lésions de l'ADN ou une instabilité génomique. Toutefois, il reste à démontrer que les effets de l'indicateur observé sont représentatifs d'une mutagenèse à l'échelon du gène ou du chromosome et se produisent également dans les cellules somatiques *in vivo*. Cela n'est pas probable, dès lors que la plupart des études antérieures ont indiqué que les hormones ne génèrent pas de micronoyaux ni d'autres types d'aberrations chromosomiques *in vivo*. À l'exception de l'étude mentionnée par Dhilon et Dhillon, les données récentes confirment les découvertes antérieures et indiquent clairement que les hormones

et/ou les produits de synthèse analogues ne sont pas associés à des propriétés génotoxiques dans les tests de micronoyaux de la moelle osseuse *in vivo*.

137. Le sous-groupe du Comité des produits vétérinaires (VPC) du Royaume-Uni a conclu dans son rapport de 1999 qu'"actuellement aucun résultat obtenu grâce à des systèmes d'essais internationalement acceptés n'indique de manière concluante que les hormones considérées dans le rapport possèdent des propriétés génotoxiques".

138. Dans son avis de 2002, le Comité des mesures scientifiques en rapport avec la santé publique (CSMVSP) a signalé une série de nouveaux essais dans lesquels l'œstradiol-17 β et/ou ses métabolites provoquent des résultats positifs. Il est à noter toutefois que tous ces essais ont été réalisés dans le cadre d'études *in vitro* sur des cultures cellulaires et qu'aucun n'a été mené *in vivo*.

139. S'il existe actuellement un certain consensus sur le fait que l'œstradiol-17 β est associé à un effet génotoxique, il n'y a néanmoins pas d'accord sur le fait que ce potentiel génotoxique pourrait s'exprimer *in vivo*, témoignant de la capacité du produit d'agir comme un cancérigène complet, responsable de l'initiation et de la promotion des tumeurs.

140. Le CMV, citant le JECFA (1999) et le CIRC (1999), en conclut que les éventuelles propriétés génotoxiques des composés (hormones et en particulier œstradiol-17 β) ne s'expriment pas *in vivo* et/ou ne jouent aucun rôle dans l'activité tumorigène. Cela signifie donc réellement que même si l'œstradiol-17 β a été considéré comme potentiellement génotoxique, l'activité tumorigène de cette hormone n'est pas liée à ce potentiel génotoxique mais à son activité hormonale.

141. S'il est vrai que le CSMVSP, dans son rapport de 1999, fait part de sa préoccupation en concluant que "finalement, eu égard aux données récentes sur la formation de métabolites génotoxiques de l'œstradiol qui donnent à penser que l'œstradiol-17 β est un cancérigène complet qui exerce un effet initiateur et un effet promoteur des tumeurs ... aucune estimation quantitative du risque lié aux résidus se trouvant dans la viande n'a pu être présentée", il reste que le Comité ne fournit aucune donnée indiquant que l'œstradiol-17 β est associé à une augmentation des tumeurs dans des tissus ou des organes qui ne sont pas hormono-dépendants.

142. En conclusion, l'évaluation des risques des CE n'a pas apporté la confirmation que, malgré le potentiel génotoxique de l'hormone, les résidus d'œstradiol-17 β peuvent jouer un rôle d'agent initiateur et promoteur des tumeurs chez l'homme.

C. AUTRES EFFETS NÉFASTES SUR LA SANTÉ HUMAINE

143. Dans son avis de 1999, le CSMVSP a également signalé que les substances dotées d'une activité hormonale pourraient être associées à d'autres effets néfastes affectant, par exemple, le développement intra-utérin et périnatal, la croissance et la puberté chez l'homme, ainsi que le système immunitaire. Cependant, ces données n'ont pas été utilisées par les Communautés européennes pour effectuer une évaluation quantitative des risques susceptible de conduire, pour ces effets associés aux propriétés hormonales des activateurs de croissance, à la fixation de seuils et de DJA différents de ceux qui ont été proposés par le JECFA.

M. Boobis

Évaluation effectuée par les CE des risques liés à la présence de résidus d'hormones dans la viande

144. Les CE n'ont pas identifié d'effets indésirables sur la santé humaine pouvant résulter de la présence de résidus d'œstradiol dans la viande provenant d'animaux traités. La raison en est que l'analyse effectuée était orientée principalement vers l'identification des dangers. Peu d'efforts ont été

réalisés concernant la caractérisation des dangers, et aucune évaluation indépendante de l'exposition n'a été effectuée. Des données de l'évaluation du JECFA ont été utilisées, en même temps que des suppositions à caractère spéculatif concernant l'usage impropre ou abusif du produit. Aucune évaluation adéquate de l'exposition résultant d'une utilisation conforme aux bonnes pratiques vétérinaires n'a été réalisée. En conséquence, il n'a pas été possible de mener à son terme la phase de caractérisation de l'évaluation. Pour l'essentiel, l'évaluation réalisée par les CE a pris fin une fois qu'il a été conclu que les effets de l'hormone ne permettaient pas d'établir des seuils (cancérogénicité génotoxique et effets hormonaux). Aucune tentative n'a été faite pour estimer l'apparition éventuelle d'effets indésirables chez l'homme par suite d'une exposition aux hormones, à des concentrations telles que celles qui se trouvent dans la viande provenant d'animaux traités.

M. Guttenplan

145. Je pense que les CE ont réalisé un travail approfondi d'identification des éventuels effets indésirables sur la santé humaine de l'œstradiol-17 β trouvé dans la viande provenant d'animaux ayant reçu cette hormone. Elles ont recensé un certain nombre d'effets de l'œstradiol-17 β potentiellement néfastes à l'homme. Elles ont établi les voies métaboliques pertinentes pour ces effets, et examiné leurs mécanismes. Elles ont effectué en outre des études détaillées des concentrations de résidus dans les animaux et dans l'environnement. Les preuves permettant d'évaluer la survenance des effets indésirables sont faibles. Les modèles animaux sont très limités et la coïncidence entre les organes cibles des animaux et ceux de l'homme n'est pas bonne. Il n'a été réalisé pratiquement aucune étude épidémiologique visant à comparer des populations appariées consommant de la viande d'animaux traités et de la viande d'animaux non traités. En conséquence, peu de conclusions peuvent être tirées concernant l'éventualité de l'apparition des effets indésirables. L'existence de ces effets semble une possibilité raisonnable. (52^{ème} réunion du JECFA, Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 43, Avis du CSMVSP 1999, 2002).

14. À votre avis, l'évaluation des risques menée par les Communautés européennes sur l'œstradiol-17 β applique-t-elle les lignes directrices du Codex sur l'évaluation des risques, notamment les quatre étapes de la procédure: identification des dangers, caractérisation des dangers, évaluation de l'exposition et caractérisation des risques ayant trait à l'œstradiol-17 β ?

M. Boisseau

146. Les Communautés européennes n'indiquent nulle part dans leur communication qu'elles n'ont pas l'intention de suivre les lignes directrices du Codex sur l'évaluation des risques, notamment les quatre étapes d'identification des dangers, de caractérisation des dangers, d'évaluation de l'exposition et de caractérisation des risques. Au contraire, les remarques qui suivent indiquent que les Communautés européennes envisagent cette même approche pour évaluer le risque associé aux résidus d'activateurs de croissance. Elles soutiennent seulement, en se fondant sur l'avis publié par le CSMVSP en 1999 (dans la mesure où les deux avis ultérieurs du CSMVSP publiés successivement en 2000 et 2002 n'ont pas modifié cette conclusion adoptée en 1999), qu'il n'est pas possible de réaliser une évaluation quantitative des risques pour ce qui concerne les six hormones en général, et l'œstradiol-17 β en particulier. Pour les Communautés européennes, une telle évaluation quantitative des risques ne peut être effectuée parce que "compte tenu des inquiétudes récentes concernant la méconnaissance des périodes critiques de la croissance pendant la vie humaine, compte tenu également des incertitudes concernant les estimations des taux de production d'hormones endogènes et de la capacité de clairance métabolique, en particulier chez les enfants prépubères, aucun seuil et donc aucune DJA ne peuvent être établis pour ces six hormones".

147. Après le réexamen de 17 études engagées au début de 1998 et l'analyse de documents récents, le CSMVSP a adopté, dans son avis publié en 2002, des conclusions qui ne contestent pas les lignes

directrices du Codex sur l'évaluation des risques. Parmi ces conclusions, le CSMVSP affirme, entre autres, que 1) "la conséquence de la consommation d'esters lipoïdiques de l'œstradiol-17 β doit être examinée dans une évaluation des risques", 2) "les expériences menées sur les génisses, qui constituent l'un des groupes d'animaux cibles les plus importants en ce qui concerne l'usage des hormones, ont indiqué une augmentation reliée à la dose des concentrations de résidus de toutes les hormones, particulièrement au site d'implantation"; "les études épidémiologiques menées sur des jumeaux de sexes opposés portent à penser que l'exposition du cojumeau de sexe féminin à des hormones *in utero* entraîne une augmentation du poids à la naissance et, par voie de conséquence une augmentation du risque de cancer du sein à l'âge adulte". (Selon ces deux déclarations, il devient nécessaire d'affiner l'évaluation de l'exposition aux résidus d'hormones.)

M. Boobis

Adhésion de l'évaluation effectuée par les CE aux lignes directrices du Codex sur l'évaluation des risques

148. Comme indiqué ci-dessus, l'évaluation des risques liés à l'œstradiol-17 β ne respecte pas les quatre étapes du paradigme d'évaluation des risques du Codex. Même si l'on avait conclu que l'œstradiol est un cancérigène génotoxique, les quatre étapes devraient avoir été respectées, pour les raisons exposées dans la réponse à la question n° 11, ci-dessus, et comme cela est expliqué plus en détail dans la section suivante.

M. Guttenplan

149. Les CE ont appliqué strictement les lignes directrices du Codex concernant l'identification des dangers, et elles ont été très rigoureuses en ce qui a trait à l'évaluation de l'exposition. La caractérisation des dangers est plus limitée car un seul modèle animal est bien caractérisé: le rein du hamster. Étant donné que le rein n'est pas une cible connue de l'œstradiol chez l'homme, l'extrapolation vers l'homme est incertaine. La caractérisation des risques est très qualitative, dans le meilleur des cas. Il existe également un modèle d'utérus de souris, qui n'a cependant pas été caractérisé en ce qui concerne la relation dose-réponse et le mécanisme d'action. Des données plus limitées sont disponibles pour certains autres modèles animaux, mais elles proviennent d'études plus anciennes pour lesquelles il n'a pas été signalé de répétition. Il n'existe aucune étude épidémiologique de l'incidence ou de la prévalence du cancer dans des populations consommant de la viande traitée aux hormones par rapport à des populations consommant de la viande non traitée. Par ailleurs, comme cela a été indiqué ci-dessus, la caractérisation des dangers est limitée. En conséquence, dans l'ensemble, les lignes directrices du Codex ont été appliquées de façon imparfaite dans cette évaluation des risques.

[Les références concernant les deux questions ci-dessus sont les suivantes: paragraphe 77 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial et avis figurant dans les pièces US-1, 4 et 17; paragraphes 194 à 207 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), paragraphes 115 à 127 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), paragraphes 85 à 91, et 134 à 153 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial; paragraphes 35 à 40 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, paragraphes 72 et 73 de la réponse des États-Unis aux questions posées par le Groupe spécial, paragraphes 140 à 160 de la première communication des États-Unis; paragraphes 70 à 111 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation et paragraphes 88 à 106 de la première communication du Canada.]

D. CONSOMMATION DE VIANDE CONTENANT DES HORMONES

a) Cancérogénicité

15. **Le fait que l'œstradiol-17 β ait été identifié comme étant un agent cancérigène pour l'homme signifie-t-il que ce composé est susceptible d'exercer des effets indésirables sur la santé humaine lorsqu'il est consommé dans la viande d'animaux traités aux hormones à des fins anabolisantes? Votre réponse dépend-elle du fait que les bonnes pratiques vétérinaires aient été respectées? [voir les paragraphes 206 et 207 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), le paragraphe 121 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), les paragraphes 97 et 98 de la réponse des CE aux questions posées par le Groupe spécial, les paragraphes 76, 77, 150, 155 et 156 de la première communication des États-Unis, les paragraphes 35 à 40 et le paragraphe 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation]**

M. Boisseau

150. Étant donné ma réponse à la question n° 13, il est légitime de conclure: 1) que le potentiel cancérigène de l'œstradiol-17 β est une conséquence de son activité hormonale, 2) qu'il est possible d'établir une DSEIO et, en appliquant un facteur de sécurité adéquat, de calculer à partir de cette DSEIO une DJA qui représente la quantité maximale d'œstradiol-17 β ne produisant aucun effet hormonal chez l'homme et n'ayant donc aucun effet cancérigène. À ce titre, il est possible de conclure, en accord avec le JECFA, qu'il est improbable que l'œstradiol-17 β produise des effets indésirables sur la santé humaine lorsqu'il est consommé dans la viande d'un animal traité aux hormones à des fins anabolisantes, même s'il est admis que ce composé est susceptible de générer des tumeurs.

151. Ma réponse dépend de la mise en œuvre efficace de bonnes pratiques vétérinaires. Il doit être clairement entendu que si ces bonnes pratiques vétérinaires ne sont pas appliquées ou si les conditions d'utilisation des médicaments vétérinaires dans l'élevage sont différentes de celles qui ont été prises en considération dans les évaluations des risques du JECFA, tout le travail mené depuis des années par le JECFA et le Codex pour définir des LMR dans le but de garantir la qualité sanitaire des aliments d'origine animale et de protéger la santé humaine contre les résidus de médicaments vétérinaires est vain.

M. Boobis

Importance de la cancérogénicité de l'œstradiol-17 β

152. L'évaluation des risques est entièrement fondée sur le fait qu'il existe une relation entre la dose et l'effet. Cela est vrai même pour les composés dont la courbe dose-réponse ne présente pas de dose seuil. Dans ce cas, plus la dose est grande, plus le risque est élevé et, en corollaire, plus la dose est réduite plus le risque est faible. L'une des questions essentielles de l'évaluation des risques est de savoir si la relation dose-réponse comporte un seuil. Dans la négative, s'il est vrai que le risque diminue en même temps que la dose, il ne devient nul que lorsqu'il n'y a plus d'exposition (dose nulle). Toutefois, dans le cas de l'œstradiol, le problème se complique du fait que le composé est produit naturellement dans l'organisme. En conséquence, la question de savoir si les quantités du produit provenant de la consommation de viande d'animaux traités ont une incidence sur la concentration de l'hormone en circulation constitue un facteur additionnel de l'évaluation des risques liés à ce composé. Si ce n'est pas le cas, il ne devrait pas y avoir de variation du risque.

153. Le JECFA a conclu que même si l'œstradiol est un agent cancérigène pour l'homme, son mode d'action est tel qu'il ne saurait présenter un risque appréciable de cancer à des expositions inférieures à la DJA. Le risque de cancer par suite d'expositions dépassant la DJA dépendrait de la durée de l'exposition, qui devrait être relativement prolongée (de l'ordre des années plutôt que des mois), et du degré d'exposition. Il est probable qu'en cas d'expositions légèrement supérieures à la DJA le risque serait minimal. Toutefois, il est impossible d'estimer avec une quelconque précision le niveau d'exposition à partir duquel le risque deviendrait appréciable. Cela pourrait également varier suivant les individus. L'exposition due à la viande d'animaux traités conformément aux bonnes pratiques vétérinaires est très inférieure à la DJA et donc au seuil marquant les effets cancérigènes. Si les bonnes pratiques vétérinaires ne sont pas respectées, la possibilité d'un risque cancérigène dépendra de l'éventuel dépassement de la DJA et de l'ampleur de ce dépassement. Néanmoins, même si la DJA était dépassée, il faudrait que ce dépassement se produise de façon régulière. Comme cela a été indiqué plus haut, une exposition occasionnelle à des doses supérieures à la DJA, comme cela peut se produire si les bonnes pratiques vétérinaires ne sont pas suivies, ne saurait être associée à une quelconque augmentation du risque de cancer.

M. Cogliano

154. Le fait que l'œstradiol-17 β ait été identifié comme étant un agent cancérigène pour l'homme signifie que ce composé est susceptible d'exercer des effets indésirables sur la santé humaine lorsqu'il est consommé dans la viande d'animaux traités aux hormones à des fins anabolisantes. Cette réponse ne dépend pas du fait que les bonnes pratiques vétérinaires aient été respectées. Elle dépend de la présence de l'hormone dans la viande consommée par la population.

M. Guttenplan

155. Si l'on estime que l'expression "susceptible de" implique une possibilité, alors on ne peut exclure les effets indésirables. Ceux-ci sont toutefois improbables si les bonnes pratiques vétérinaires sont respectées. Si elles ne le sont pas, la possibilité d'effets indésirables peut être considérable. (52^{ème} réunion du JECFA, Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 43, Avis du CSMVSP 1999, 2002).

16. Les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP corroborent-elles la conclusion selon laquelle les effets cancérigènes des hormones en question sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale? [voir le paragraphe 148 des réponses des Communautés européennes aux questions posées par le Groupe spécial et les paragraphes 35 à 40 et 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation]

M. Boisseau

A. ESTRADIOL-17B

156. Compte tenu de ma réponse à la question n° 13, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérigènes de l'œstradiol-17 β sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

B. PROGESTÉRONE

157. Lors de sa 32^{ème} session, le JECFA a conclu que "bien que des résultats ambigus aient été signalés concernant l'induction de cassures monocaténares dans l'ADN et que certaines études aient fait mention de la présence d'adduits à l'ADN *in vivo* et *in vitro*, la progestérone n'est pas mutagène ... la progestérone n'est pas potentiellement génotoxique". Le Comité a également conclu que "ces effets

sur la production de tumeurs se sont présentés uniquement avec des doses de progestérone occasionnant des effets hormonaux évidents ... les effets de la progestérone sur la production de tumeurs sont directement liés à son activité hormonale".

158. Dans son rapport de 1999, le CSMVSP a conclu, à propos de la cancérogénicité de la progestérone que "les données sont actuellement insuffisantes pour réaliser une quelconque estimation du risque découlant de l'exposition à des résidus présents dans la viande". En conséquence, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes de la progestérone sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

C. TESTOSTÉRONE

159. Lors de sa 32^{ème} session, le JECFA a conclu que "l'augmentation de l'incidence des tumeurs prostatiques et utérines observée chez des rongeurs ayant reçu des doses élevées de progestérone provient de l'activité hormonale de la testostérone". Lors de sa 52^{ème} session qui s'est tenue en 1999, le JECFA a conclu qu'"il n'a été trouvé, dans les cellules de mammifères, aucune aberration chromosomique, aucune mutation chromosomique et aucun adduit à l'ADN à la suite d'un traitement à la testostérone ... la testostérone n'est pas potentiellement génotoxique".

160. Dans son rapport de 1999, le CSMVSP a conclu, à propos de la cancérogénicité de la testostérone, que compte tenu de l'insuffisance des données disponibles concernant la génotoxicité et la cancérogénicité sur l'homme, il n'était pas possible d'effectuer une estimation quantitative concluante du risque découlant d'une ingestion excessive du composé dans la viande d'animaux traités. En conséquence, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes de la testostérone sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

D. MÉLENGESTROL

161. Lors de sa 54^{ème} session, le JECFA a conclu, à la suite de l'examen d'une série de tests *in vitro* et *in vivo*, que l'acétate de mélangestrol ne possédait pas de propriétés génotoxiques. Le Comité a également convenu qu'"il n'a pas été possible de parvenir à une conclusion ferme concernant le potentiel cancérogène de l'acétate de mélangestrol sur des souris ICR ... on a supposé que l'augmentation de l'incidence des tumeurs malignes dans le groupe de souris C3Han/f prépubères ayant reçu les doses les plus élevées était due non pas à un effet cancérogène direct de l'acétate de mélangestrol mais à l'effet promoteur de l'augmentation des concentrations de prolactine".

162. Dans son rapport de 1999, le CSMVSP a conclu, à propos de la cancérogénicité du mélangestrol, qu'"étant donné l'absence de données sur la mutagénicité/cancérogénicité et sur les interactions avec l'ADN et en considération des études de cancérogénicité menées sur une seule espèce animale, l'information est inadéquate pour évaluer le potentiel cancérogène du mélangestrol". En conséquence, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes du mélangestrol sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

E. TRENBOLONE

163. Lors de sa 32^{ème} session qui s'est tenue en 1987, le JECFA a conclu, sur la base d'études de cancérogénicité chez les animaux, que "les hyperplasies et tumeurs hépatiques chez les souris ... et la légère augmentation de l'incidence des tumeurs langheransiennes du pancréas chez les rats sont dues à l'activité hormonale de la trenbolone". Lors de sa 34^{ème} session, en 1989, le JECFA, après avoir analysé une batterie exhaustive de tests à court terme, a conclu qu'"il n'est pas probable que l'acétate

de trenbolone possède des propriétés génotoxiques" et a décidé d'entériner sa précédente conclusion et de fonder l'évaluation de l'acétate de trenbolone et de ses métabolites sur la dose sans effet hormonal.

164. Dans son rapport de 1999, le CSMVSP a conclu, à propos de la cancérogénicité de la trenbolone, que "compte tenu de l'absence de tests de mutagénicité et de génotoxicité à court terme *in vitro* portant sur les métabolites autres que la α -trenbolone, et compte tenu également du fait que les tests de transformation cellulaire et les études *in vivo* ont donné des résultats ambigus, les données ne sont pas suffisantes pour mener à bien une évaluation quantitative du risque". En conséquence, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes de la trenbolone sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

F. ZÉRANOL

165. Lors de sa 32^{ème} session qui s'est tenue en 1987, le JECFA a conclu que le zéranol et ses métabolites, la zéaralanone et le taléranol n'étaient pas mutagènes dans divers essais pratiqués sur des systèmes bactériens et mammaliens, tout en faisant remarquer que le zéranol donnait un résultat positif dans l'épreuve Rec et que le taléranol donnait un résultat positif dans l'épreuve sur les cellules ovariennes de hamster chinois en l'absence d'activation mais un résultat négatif dans l'épreuve avec activation. Après avoir analysé les études de cancérogénicité chez les animaux, le JECFA a conclu que "l'effet tumorigène du zéranol était lié à ses propriétés œstrogènes".

166. Dans son rapport de 1999, le CSMVSP a conclu, à propos de la cancérogénicité du zéranol que "compte tenu de l'absence de données relatives à la mutagénicité/génotoxicité et la preuve évidente d'une induction d'adénomes et de carcinomes hépatiques dans une espèce animale, aucune évaluation de l'éventuelle cancérogénicité du zéranol ne peut être effectuée". En conséquence, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes du zéranol sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

167. Pour conclure, compte tenu de ma réponse à la question n° 13 ci-dessus, les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes de l'œstradiol-17 β sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale. Par ailleurs, étant donné les conclusions du JECFA et le fait que le CSMVSP fonde invariablement ses réserves sur l'absence d'information plus que sur des données établissant la génotoxicité des cinq autres hormones (progestérone, testostérone, mélangestrol, trenbolone et zéranol) et leur capacité d'agir en tant que cancérogènes complets, on peut affirmer que les preuves scientifiques sur lesquelles reposent les Avis du CSMVSP ne corroborent pas la conclusion selon laquelle les effets cancérogènes de ces cinq hormones sont liés à un mécanisme autre que l'activité hormonale.

M. Boobis

Mécanisme de la cancérogénicité de l'œstradiol-17 β

168. Il ne fait aucun doute que certaines des hormones qui font l'objet du différend sont génotoxiques et mutagènes dans certains essais *in vitro*. La conduite et l'interprétation de ces essais demandent néanmoins des compétences d'expert. Pour certains critères d'évaluation, les positifs artéfactuels, dus, par exemple, à la cytotoxicité, sont fréquents, et même un vrai positif peut être le résultat de conditions du système *in vitro* éloignées des conditions physiologiques (Greenwood *et al.*, 2004; Kirkland *et al.*, 2005). C'est pourquoi les lignes directrices relatives aux tests de génotoxicité exigent qu'un résultat positif *in vitro* soit confirmé par un essai *in vivo* approprié (CMV, 2004). Les tests sur les métabolites ou les métabolites présumés constituent un facteur additionnel. Ces

composés peuvent être testés *in vitro* sans qu'interfèrent les processus de détoxification ou d'excrétion. Par contre, *in vivo* certains métabolites ne se forment pas en concentrations suffisamment élevées et pendant une durée assez prolongée pour générer des effets génotoxiques. La formation de dérivés réactifs de l'oxygène est un exemple majeur de cette situation. Alors qu'il s'agit d'un mécanisme de mutagénicité bien connu *in vitro*, il y a très peu de preuves de cet effet *in vivo* (Bianco *et al.*, 2003; Brusick, 2005). Par ailleurs, il existe un seuil pour ce mécanisme, du fait de l'efficacité des systèmes antioxydants endogènes (Aria *et al.*, 2006; Russo *et al.*, 2004). La raison en est que la production endogène de dérivés réactifs de l'oxygène au cours du métabolisme intermédiaire est considérable et que, de ce fait, des systèmes de protection se sont mis en place pour sauvegarder l'intégrité des cellules (Russo *et al.*, 2004). C'est pour cela que les études *in vitro* impliquant des métabolites mis en jeu dans le mode d'action d'un cancérigène doivent être ratifiées par des études mécanistes *in vivo*. En particulier, les preuves de la formation de ces métabolites et de leurs effets génotoxiques doivent être recherchées *in vivo*. Il existe des preuves adéquates de la génotoxicité de certaines des hormones dans certains essais *in vitro*, mais des données appuient l'existence de mécanismes autres qu'une réactivité directe sur l'ADN. La possibilité d'un cycle d'oxydo-réduction de certains métabolites, lié à la genèse de dérivés réactifs de l'oxygène qui peuvent donner lieu à une hydroxylation en position 8 de la guanine, a été examinée plus haut (voir également Yagi *et al.*, 2001). Le cycle d'oxydo-réduction peut engendrer des adduits par d'autres mécanismes, tels que la formation d'aldéhydes (Lin *et al.*, 2003). Il existe des seuils clairement définis pour ces interactions (voir ci-dessus). Les preuves vont à l'encontre d'une interaction directe de l'œstradiol ou de ses métabolites avec l'ADN (Chen *et al.*, 2005; Hurh *et al.*, 2004; Huez *et al.*, 2004). Les propriétés génotoxiques de l'œstradiol peuvent être causées par des effets autres qu'une interaction directe ou indirecte avec l'ADN, notamment par l'induction de micronoyaux (Fischer *et al.*, 2001) et l'accroissement de l'instabilité de l'ADN (Stopper *et al.*, 2003). Pour ces deux effets, il existe des seuils.

169. Les effets cancérigènes de l'œstradiol semblent être une conséquence de son activité endocrine. La réactivité aux hormones des tissus cibles, la concordance entre l'effet cancérigène et la puissance œstrogénique, l'absence de preuves fiables de génotoxicité, notamment en matière de fixation d'ADN, dans les tissus cibles, constituent des preuves à l'appui de cette hypothèse. Il convient de noter que l'antagonisme spécifique entre le récepteur d'œstrogène, chez les femmes, et certains médicaments comme le tamoxifène réduit notablement le risque de cancers liés à l'œstrogène, comme le cancer du sein chez les femmes présentant un facteur de risque élevé en raison de leur état endocrinien (Fisher *et al.*, 2005). Dans la mesure où ces études permettent de l'estimer, cela donne à penser que les effets de l'œstradiol sont influencés par l'activation du récepteur de l'œstrogène. L'importance du récepteur de l'œstrogène (RE α) dans les effets cancérigènes de l'œstradiol est confirmée par les résultats des études expérimentales effectuées sur des souris génétiquement modifiées (Tilli *et al.*, 2003).

170. Comme indiqué ci-dessus, les études dans lesquelles des résultats positifs ont été obtenus pour la génotoxicité de l'œstradiol et sur lesquelles se sont fondées les conclusions des CE en ce qui concerne le mécanisme devraient avoir été évaluées sur la base du poids de la preuve. Plusieurs des études présentaient des insuffisances notables; par ailleurs, un certain nombre d'études bien conduites portant sur divers critères d'évaluation auraient dû être prises en compte dans une telle évaluation.

Arai T, Kelly VP, Minowa O, Noda T et Nishimura S (2006). *The study using wild-type and Ogg1 knockout mice exposed to potassium bromate shows no tumor induction despite an extensive accumulation of 8-hydroxyguanine in kidney DNA. Toxicology* 221:179-186.

Bianco NR, Perry G, Smith MA, Templeton DJ et Montano MM. *Functional implications of antiestrogen induction of quinone reductase: inhibition of estrogen-induced deoxyribonucleic acid damage* (2003). *Mol Endocrinol* 17:1344-1355.

Brusick D (2005). *Analysis of genotoxicity and the carcinogenic mode of action for ortho-phenylphenol*. *Environ Mol Mutagen*, **45**:460-481.

Chen ZH, Na HK, Hurh YJ et Surh YJ (2005). *4-Hydroxyestradiol induces oxidative stress and apoptosis in human mammary epithelial cells: possible protection by NF-kappaB and ERK/MAPK*. *Toxicol Appl Pharmacol*, **208**:46-56.

CMV (2004). *Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Genotoxicity Testing*, European Medicines Agency, London.

Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Cecchini RS, Cronin WM, Robidoux A, Bevers TB, Kavanah MT, Atkins JN, Margoless RG, Runowicz CD, James JM, Ford LG et Wolmark N (2005). *Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study*. *J Natl Cancer Inst*, **97**:1652-1662.

Fischer WH, Keiwan A, Schmitt E et Stopper H (2001). *Increased formation of micronuclei after hormonal stimulation of cell proliferation in human breast cancer cells*. *Mutagenesis*, **16**:209-212.

Greenwood SK, Hill RB, Sun JT, Armstrong MJ, Johnson TE, Gara JP, Galloway SM (2004). *Population doubling: a simple and more accurate estimation of cell growth suppression in the in vitro assay for chromosomal aberrations that reduces irrelevant positive results*. *Environ Mol Mutagen* **43**:36-44. Erratum in: *Environ Mol Mutagen*, 2004, **44**:90.

Hurh YJ, Chen ZH, Na HK, Han SY and Surh YJ (2004). *2-Hydroxyestradiol induces oxidative DNA damage and apoptosis in human mammary epithelial cells*. *J Toxicol Environ Health A*, **67**:1939-1953.

Huetz P, Kamarulzaman EE, Wahab HA et Mavri J (2004). *Chemical reactivity as a tool to study carcinogenicity: reaction between estradiol and estrone 3,4-quinones ultimate carcinogens and guanine*. *J Chem Inf Comput Sci*, **44**:310-314.

Kirkland D, Aardema M, Henderson L, Muller L. *Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity* (2005). *Mutat Res* **584**:1-256. Erratum in: *Mutat Res*, 2005, **588**:70.

Lin PH, Nakamura J, Yamaguchi S, Asakura S et Swenberg JA (2003).

Aldehydic DNA lesions induced by catechol estrogens in calf thymus DNA. *Carcinogenesis* **24**:1133-1141.

Russo MT, De Luca G, Degan P, Parlanti E, Dogliotti E, Barnes DE, Lindahl T, Yang H, Miller JH et Bignami M (2004). *Accumulation of the oxidative base lesion 8-hydroxyguanine in DNA of tumor-prone mice defective in both the Msh and Ogg1 DNA glycosylases*. *Cancer Res* **64**:4411-4414.

Stopper H, Schmitt E, Gregor C, Mueller SO et Fischer WH (2003). *Increased cell proliferation is associated with genomic instability: elevated micronuclei frequencies in estradiol-treated human ovarian cancer cells*. *Mutagenesis*, **18**:243-247.

Tilli MT, Frech MS, Steed ME, Hruska KS, Johnson MD, Flaws JA et Furth PA (2003). Introduction of estrogen receptor-alpha into the tTA/TA α conditional mouse model precipitates the development of estrogen-responsive mammary adenocarcinoma. Am J Pathol, 163:1713-1719.

Yagi E, Barrett JC et Tsutsui T (2001). The ability of four catechol estrogens of 17 β -estradiol and estrone to induce DNA adducts in Syrian hamster embryo fibroblasts. Carcinogenesis, 22:1505-1510.

M. Guttenplan

171. Les Avis du CSMVSP (Avis du CSMVSP 1999, 2002) indiquent effectivement qu'un mécanisme autre que l'activité hormonale est possible: "en tenant compte des découvertes récentes relatives à la génotoxicité d'origine métabolique du 17 β -œstradiol (voir le chapitre 2.5 du rapport), on doit désormais considérer comme dépourvue de validité l'hypothèse selon laquelle le pouvoir cancérogène dépend uniquement de l'activité hormonale". Toutefois, les États-Unis et le Canada citent d'autres rapports indiquant que les effets génotoxiques des œstrogènes sont improbables. Il est à signaler également que des rapports plus récents soutiennent l'existence d'un mécanisme génotoxique par lequel les hormones contribuent au cancer (Avis du CSMVSP, 2002).

- 17. Pourriez-vous formuler des observations concernant la déclaration du Canada selon laquelle "par ailleurs, les études réalisées à la demande des Communautés européennes n'ont permis de découvrir aucune preuve de la présence de "métabolites à structure catéchol" – c'est-à-dire de métabolites de l'œstradiol considérés comme étant la source de son potentiel génotoxique – dans la viande d'animaux traités"? Quelles répercussions aurait l'absence ou la présence de métabolites à structure catéchol? [voir le paragraphe 102 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation, pièce EC-51A]**

M. Boisseau

172. L'affirmation du Canada selon laquelle "par ailleurs, les études réalisées à la demande des Communautés européennes n'ont permis de découvrir aucune preuve de la présence "métabolites à structure catéchol" dans la viande d'animaux traités" semble exacte si l'on examine l'étude signalée dans la pièce EC-51A. Il est écrit à la page 15 de ce rapport que, dans une étude *in vivo* du métabolisme, 1) la présence de méthoxy-œstrogènes provenant de l'activité de la catéchol-O-méthyltransférase (COMT) sur des catéchol-œstrogènes n'a été démontrée ni dans le foie ni dans le rein ... 2) les résidus ... sont à peine détectables 12 jours après l'injection d'œstradiol-17 β ; cela pourrait s'expliquer par un fort taux de renouvellement de métabolites liés par covalence aux macromolécules (s'ils existent dans la réalité), qui seraient différents des adduits de catéchol-œstrogènes dans les protéines ... 3) toutefois, des concentrations très faibles de conjugués glutathion ou glucuronide de catéchol-œstrogènes pourraient se trouver dans des extraits de foie ou de rein et correspondre à des pointes inférieures aux valeurs minimales qui ont été isolées mais qu'il n'a pas été possible d'identifier en raison des infimes quantités purifiées ... Néanmoins, un métabolite secondaire, dérivé de l'acide glucuronique et d'un méthoxy-œstrone, a été identifié dans l'urine d'un bouvillon, ce qui prouve qu'il existe une biosynthèse des catéchol-œstrogènes, bien que très faible ... 4) aucune trace d'adduits de catéchol-œstrogènes n'a pu être détectée dans cette fraction" (page 16), en même temps que dans des études *in vitro* ... "Aucun métabolite issu de la biosynthèse des catéchol-œstrogènes n'a pu être isolé" (page 18), "Des études de métabolisme effectuées *in vivo* ... et *in vitro* ... n'ont pas réussi à mettre en évidence une activité significative d'hydroxylation aromatique susceptible de produire des métabolites dérivés des catéchol-œstrogènes".

173. Pour conclure, 1) on peut affirmer que cette étude n'a permis de découvrir aucune preuve de l'existence de métabolites issus de la biosynthèse des catéchol-œstrogènes. On ne peut toutefois

exclure la possibilité que cette biosynthèse des catéchol-œstrogènes existe, bien que très faible; 2) si l'on avait démontré la présence de quantités notables de métabolites à structure catéchol, ce qui n'est pas le cas, il serait nécessaire de prendre en considération le potentiel génotoxique de ces métabolites lors de l'évaluation du potentiel génotoxique de l'œstradiol-17 β .

M. Boobis

Importance des métabolites à structure catéchol

174. Les données analytiques indiquent clairement que les concentrations de métabolites à structure catéchol dans la viande des animaux traités sont inférieures aux limites de détection de la méthode. Ce résultat est en accord avec la rapidité de la détoxification et de l'élimination de ces métabolites *in vivo*. Les répercussions pour l'évaluation des risques liés à l'œstradiol dépendent des suppositions de fond concernant les effets cancérogènes du composé. Pour que les catéchols aient de l'importance, il faudrait qu'ils soient responsables des effets cancérogènes de l'œstradiol, et il serait en outre nécessaire qu'il n'existe pas de seuil pour que ces effets se produisent, ou que les doses ingérées dépassent le seuil si celui-ci existait. L'œstradiol à doses élevées est lui-même cancérogène pour l'homme. L'effet cancérogène n'est donc pas nécessairement soumis à une exposition à des catéchols préformés. Ces métabolites, s'ils sont nécessaires à la cancérogénicité, peuvent être formés *in vivo* en quantités suffisantes. Cependant, comme cela a été indiqué ci-dessus, il n'existe pas de preuves solides de l'intervention des catéchols dans les effets cancérogènes des hormones. En outre, comme cela a également été analysé plus haut, toute génotoxicité de ces composés due au cycle d'oxydo-réduction se heurterait aux systèmes antioxydants endogènes. En conséquence, s'il est vrai que l'absence de quantités détectables de catéchols dans la viande des animaux traités est rassurante, la découverte de faibles concentrations de ces métabolites n'aurait aucune incidence sur l'évaluation des risques.

M. Cogliano

175. La présence de métabolites à structure catéchol renforcerait l'éventualité de l'apparition d'effets indésirables. L'absence de ces métabolites pourrait signifier soit 1) que le composé d'origine n'a pas généré une quantité détectable de métabolites à structure catéchol, soit 2) qu'une certaine concentration de ces métabolites s'est formée, mais que la sensibilité des méthodes de test utilisés n'a pas été suffisante pour les détecter.

M. Guttenplan

176. Il est vrai qu'uniquement des quantités très réduites de métabolites à structure catéchol ont été détectées dans la viande des animaux traités. Toutefois, il a été découvert des concentrations significatives d'œstradiol et d'œstrone qui, chez l'homme, peuvent être métabolisés en catéchols (Rogan EG. Badawi AF. Devanesan PD. Meza JL. Edney JA. West WW. Higginbotham SM. Cavalieri EL. *Relative imbalances in estrogen metabolism and conjugation in breast tissue of women with carcinoma: potential biomarkers of susceptibility to cancer. Carcinogenesis. 24(4):697-702, 2003*). À la différence de l'homme, les bovins ne métabolisent pas l'œstradiol en catéchols de façon efficace, ce qui explique les concentrations très faibles de catéchols dans la viande. En conséquence, l'absence de catéchols ne signifie pas que la viande des animaux traités aux œstrogènes ne présente pas de risques de génotoxicité.

18. Veuillez formuler des observations concernant l'argument des États-Unis selon lequel les Communautés européennes n'apportent pas de preuves scientifiques de la génotoxicité de l'œstradiol-17 β . Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir les paragraphes 118 et 119 de la communication des CE présentée à titre de réfutation

(affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 123 et 124 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), les paragraphes 87 à 91 et 153 à 156 de la première communication des États-Unis, les paragraphes 35 à 40 et 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation et les paragraphes 90 à 97 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]

M. Boisseau

177. La question du potentiel génotoxique de l'œstradiol-17 β a déjà été abordée dans ma réponse à la question n° 13. Je voudrais en outre formuler une observation concernant les paragraphes 118 et 119 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis). Il est vrai que le JECFA, étant donné les conclusions de son évaluation des risques, n'a pas jugé nécessaire, en 1988, d'établir une DJA pour les trois hormones naturelles. Postérieurement, lors de sa 52^{ème} session, qui a eu lieu en 1999, le Comité, non parce qu'il avait modifié son évaluation concernant ces trois hormones, mais pour présenter les conclusions de cette évaluation de manière plus convaincante, a décidé d'établir une DJA pour chacune des trois hormones naturelles et d'indiquer que la dose estimée de résidus représentait de 2 à 4 pour cent de la DJA pour l'œstradiol-17 β , 0,03 pour cent pour la progestérone et 0,05 pour cent pour la testostérone. Par ailleurs, en prenant en considération ma réponse à la question n° 8, il faut rappeler que cette dose de résidus estimée théorique est d'autant plus prudente qu'elle néglige la très médiocre biodisponibilité orale de ces hormones.

178. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Génotoxicité de l'œstradiol-17 β

179. Ce point a été examiné en détail dans ma réponse à la question n° 15. Pour rappeler ce qui a été exposé, bien que des études sérieuses démontrent la génotoxicité de l'œstradiol dans certains essais *in vitro*, les preuves vont à l'encontre de toute génotoxicité *in vivo*. On est fondé à penser que certaines, voire la totalité, des propriétés génotoxiques observées *in vitro* présentent un seuil, en particulier celles qui font intervenir les dérivés réactifs de l'oxygène. Ma réponse aurait été la même lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Cogliano

180. Les CE apportent assurément des preuves scientifiques de la génotoxicité de l'œstradiol-17 β . La question est cependant de savoir si cette génotoxicité est susceptible de se manifester aux concentrations que l'on trouve dans les résidus présents dans la viande. Le dernier argument présenté par les CE (au paragraphe 124 de la communication des CE présentée à titre de réfutation, affaire concernant le Canada) selon lequel la cancérogénicité de l'œstradiol-17 β est due à une combinaison de génotoxicité et de multiplication cellulaire n'est pas contredit par les arguments soutenus précédemment par le Canada et les États-Unis. Par ailleurs, les CE n'ont pas établi que la génotoxicité et la multiplication cellulaire seraient induites par les concentrations d'œstradiol-17 β trouvées dans les résidus présents dans la viande, ajoutées aux concentrations préexistantes chez les personnes exposées.

M. Guttenplan

181. Les CE ont fait allusion, en 2003, à des preuves scientifiques de la génotoxicité de l'œstradiol-17 β : "l'œstradiol-17 β induit des mutations dans diverses cellules de mammifères cultivées.

Le métabolite réactif, l'œstradiol-3,4-quinone, induit également des mutations dans la peau de la souris *in vivo*. Les quinones de catéchol-œstrogènes forment des adduits à l'ADN dans les cellules cultivées et dans la peau de la souris" (note de bas de page 82, communication présentée à titre de réfutation, affaire concernant les États-Unis). En comparaison avec de précédents rapports, ces preuves étaient plus concluantes. Toutefois les preuves sont actuellement encore plus formelles. (Rogan EG. Cavalieri EL. *Estrogen metabolites, conjugates, and DNA adducts: possible biomarkers for risk of breast, prostate, and other human cancers. Advances in Clinical Chemistry. 38:135-49, 2004.*)

19. Les Communautés européennes affirment que "... de l'avis général, pour les produits potentiellement génotoxiques (comme c'est le cas de l'œstradiol-17 β) il n'est pas possible d'identifier un seuil. On ne peut donc pas affirmer qu'il existe une concentration inoffensive, en-deçà de laquelle l'ingestion de résidus devrait être considérée comme ne présentant aucun danger. Par conséquent, le fait que les doses utilisées pour stimuler la croissance soient faibles n'est pas pertinent". Les preuves scientifiques auxquelles font référence les Communautés européennes étayaient-elles ces conclusions? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir le paragraphe 201 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 120 à 122 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), les paragraphes 73 et 86 à 98 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation, les paragraphes 87 à 91 et 153 à 156 de la première communication des États-Unis et les paragraphes 35 à 40 et 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation]

M. Boisseau

182. La question du potentiel génotoxique de l'œstradiol-17 β a déjà été abordée dans ma réponse à la question n° 13. L'affirmation des Communautés européennes selon laquelle "de l'avis général ... n'est pas pertinent" est exacte du moment qu'elle fait allusion à l'évaluation de résidus de xénobiotiques. Les preuves scientifiques mentionnées par les Communautés européennes ne démontrent pas que cette affirmation puisse également s'appliquer dans le cas de l'œstradiol-17 β , de la progestérone et de la testostérone, dès lors que ces trois hormones naturelles sont produites aussi bien par l'homme que par les animaux de boucherie. Par conséquent, même en l'absence de toute consommation d'aliments provenant d'animaux traités aux hormones de croissance, l'homme est exposé naturellement et continuellement à ces hormones naturelles, du fait notamment 1) de sa propre production hormonale qui peut être très élevée, par exemple dans le cas des femmes enceintes, 2) de la consommation de viande de bovins d'élevage non traités, 3) de la consommation de viande d'autres animaux de boucherie, 4) de la consommation de lait et d'œufs. À ma connaissance, aucune étude épidémiologique n'indique que cette exposition continue de l'homme à ces hormones naturelles constitue un risque sanitaire identifié.

183. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Potentiel génotoxique et absence de seuil

184. Ce point a été abordé en partie dans les réponses ci-dessus. Pour évaluer les risques liés aux composés dont la cancérogénicité est due à un mécanisme (ou mode d'action) génotoxique, l'Union européenne et le JECFA supposent qu'il n'existe pas de seuil, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de concentration en-deçà de laquelle l'exposition est considérée comme ne présentant pas de risque.

Dans ces circonstances, il n'est donc pas établi de DJA (dès lors que cela signifierait qu'il existe une concentration "inoffensive"). Dans le cas présent toutefois, la préoccupation essentielle concerne l'effet cancérogène et non la génotoxicité *in vitro*. Bien que la génotoxicité *in vivo* sans cancérogénicité puisse constituer un motif de préoccupation, la cancérogénicité due à un mode d'action autre que la génotoxicité, pour laquelle il existe un seuil démontrable et biologiquement plausible, ne rentrerait pas dans cette catégorie. En conséquence, quoique que l'œstradiol puisse se révéler génotoxique dans certains essais *in vitro*, la question de savoir si cette caractéristique exige d'adopter une méthode d'évaluation des risques dans laquelle aucun seuil n'est fixé dépend essentiellement a) du mécanisme de génotoxicité et b) de la pertinence des résultats obtenus *in vitro* pour les effets *in vivo*. Les CE ont admis que pour certains mécanismes de génotoxicité, comme l'inhibition de la formation du fuseau achromatique, il existe un seuil (CE, 2005a). Les effets génotoxiques des composés rédox-actifs présentent également un seuil (Brusick, 2005). En outre, les CE ont admis qu'il peut parfois se présenter *in vivo* des facteurs cinétiques qui ne permettent pas au potentiel génotoxique d'un composé, qui est positif *in vitro*, de s'exprimer *in vivo* à des niveaux d'exposition normaux, et qu'il existe dès lors un seuil *de facto* (par exemple l'exposition orale au phénol; Bureau européen des substances chimiques, 2006). Il n'existe aucune preuve concluante indiquant que l'œstradiol est génotoxique *in vivo* ou qu'il provoque le cancer par un mécanisme génotoxique. En fait, les preuves indiquent le contraire. En conséquence, les preuves scientifiques ne soutiennent pas sur ce point les conclusions des CE lorsqu'elles affirment que les concentrations d'hormones dans la viande des animaux traités ne sont pas pertinentes.

185. Ma réponse aurait été la même lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

CE (2005a). *Journal officiel L 241, 17 septembre 2005, pages 0051 à 0056.*

Bureau européen des substances chimiques (2006). *European Union Risk Assessment Report on phenol. CAS No. 108-95-2. EINECS No. 203-632-7. 1st Priority List, Volume 64. EUR 22229 EN.*

M. Cogliano

186. La déclaration des CE selon laquelle il n'est pas possible d'identifier un seuil est révélatrice du point de vue des Communautés concernant les mécanismes génotoxiques, tout comme la déclaration contraire, affirmant qu'il existe un seuil et que celui-ci est supérieur aux concentrations découvertes dans les résidus présents dans la viande, est révélatrice de la manière dont le Canada et les États-Unis considèrent les mécanismes génotoxiques. Aucune des deux déclarations n'a été confirmée par des preuves scientifiques. Elles constituent plutôt des suppositions différentes que chaque partie utilise pour interpréter les informations disponibles.

M. Guttenplan

187. Les données mentionnées par les CE appuient la théorie d'un mécanisme génotoxique aussi bien que celle d'un mécanisme hormonal. Il est vrai qu'il n'y a aucune raison de s'attendre à ce qu'il existe un seuil pour une substance chimique génotoxique. Bien qu'une réparation de l'ADN puisse se produire, il est vraisemblable que cette réparation s'opère quelle que soit la dose, et que la fraction d'ADN endommagée et réparée ne change pas aux concentrations physiologiques car il est peu probable que les enzymes de réparation soient saturées. La déclaration selon laquelle "le fait que les doses utilisées pour stimuler la croissance soient faibles n'est pas pertinent" n'est pas nécessairement exacte (paragraphe 118 et 119 de la communication des CE présentée à titre de réfutation, affaire des États-Unis). Pour toute toxine, le risque est déterminé par la dose. Lorsque l'exposition est très faible, le risque est très faible. On peut toutefois débattre sur la définition du mot "faible". Il convient également de remarquer que lorsque les concentrations de cancérogènes génotoxiques sont très basses, la diminution du risque est plus que proportionnelle à celle de la dose appliquée.

188. Mon opinion concernant les effets génotoxiques aurait été moins assurée en 2003, mais mon opinion sur l'existence et la signification des seuils ne se serait pas modifiée.

20. À votre avis, quel est le rapport entre les conclusions des Communautés européennes mentionnées ci-dessus et la conclusion du Codex selon laquelle "il n'a pas été jugé nécessaire de fixer une dose journalière admissible et une limite maximale de résidus pour une hormone d'origine endogène que l'on peut trouver chez l'homme à des concentrations variables"? À votre avis, dans quelle mesure la conclusion du JECFA selon laquelle l'œstradiol "a un potentiel génotoxique" a-t-elle eu une incidence sur les recommandations de cet organisme concernant l'hormone?

M. Boisseau

189. Il existe un rapport évident entre les conclusions des Communautés européennes mentionnées à la question n° 19 et la conclusion du Codex selon laquelle "il n'a pas été jugé nécessaire de fixer une DJA et une LMR pour une hormone d'origine endogène que l'on peut trouver chez l'homme à des concentrations variables". La réponse donnée à la question n° 19 explique ce rapport et la raison pour laquelle les conclusions des Communautés européennes sont contestables.

190. La réponse donnée à la question n° 13 est applicable à la deuxième partie de cette question. Les conclusions du JECFA selon lesquelles l'œstradiol-17 β "a un potentiel génotoxique" n'ont pas eu d'incidence sur les recommandations de cet organisme concernant l'hormone.

M. Boobis

Pertinence de la production endogène d'œstradiol-17 β pour l'évaluation des risques

191. Les conclusions des CE dépendent jusqu'à un certain point du concept de risque différentiel selon lequel une exposition exogène devient une source de préoccupation selon le degré d'exposition endogène ou naturelle sous-jacente. Certains soutiennent que dans le cas d'un composé pour lequel il n'existe pas de seuil, toute augmentation, même infime, de l'exposition est préoccupante, alors que d'autres affirment qu'une variation minimale en pourcentage n'a pas véritablement d'incidence sur le risque (voir par exemple *CIPR, 2003*). Toutefois, avant d'examiner la question du risque différentiel, il est pertinent de se demander si un faible niveau d'exposition a un quelconque impact sur la concentration d'hormone en circulation. La production d'œstradiol est soumise à un contrôle homéostatique qui régule la synthèse et la dégradation de l'hormone (révisé par *Fotherby, 1996*). En outre, la biodisponibilité de l'œstradiol ingéré par voie orale est très faible (inférieure à 10 pour cent) en raison de la métabolisation présystémique du produit (*Kuhnz et al., 1993*). En conséquence, il doit exister une fourchette d'expositions pour lesquelles des modifications compensatrices de la concentration endogène permettent à l'organisme de conserver le même taux d'œstradiol. Il est prouvé que de faibles expositions à l'œstradiol, supérieures toutefois aux doses qui sont présentes dans la viande d'animaux traités, n'entraînent aucune modification mesurable du taux d'œstradiol en circulation (*Mashchak et al., 1986*). La concentration d'œstradiol endogène varie selon l'état physiologique. Les effets endocriniens d'une concentration donnée d'œstradiol varient donc selon l'état physiologique spécifique. En conséquence, il est concevable qu'une augmentation différentielle modeste de la concentration d'œstradiol, due à une exposition exogène (supérieure à la DJA), puisse perturber les effets endocriniens, en fonction de l'état physiologique. Cependant, les effets non endocriniens, comme la génotoxicité, dépendent de la concentration d'œstradiol en circulation et ne varient pas selon l'état physiologique. Il s'ensuit que les variations naturelles du taux d'œstradiol en circulation devraient avoir un effet beaucoup plus important sur une éventuelle réaction génotoxique que la modification bien plus limitée qui pourrait découler de la présence de l'hormone dans la viande d'animaux traités, quelle que soit la concentration résultant de l'utilisation de cette hormone en tant qu'activateur de croissance. En fait, cette observation est applicable, indifféremment du mécanisme

de cancérogène. En conséquence, les conclusions des CE relatives à l'absence de sécurité à n'importe quel degré d'exposition contredisent quelque peu le fondement de la conclusion du Codex concernant la nécessité d'une DJA et d'une LMR.

192. Je ne crois pas que la conclusion du JECFA selon laquelle l'œstradiol a un "potentiel génotoxique" ait eu une incidence sur ses recommandations concernant cette hormone, qui étaient fondées sur l'existence d'un seuil pour ses effets cancérogènes. La conclusion du JECFA concernant la génotoxicité était basée sur des résultats positifs obtenus dans certains tests *in vitro*, mais les preuves allaient à l'encontre d'une réaction mutagène *in vivo*.

Fotherby K (1996). Bioavailability of orally administered sex steroids used in oral contraception and hormone replacement therapy. Contraception, 54:59-69

CIPR (2003). The evolution of the system of radiological protection: the justification for the new ICRP recommendations. J Radiol Prot, 23:129-142

Kuhn W, Gansau C et Mahler M (1993). Pharmacokinetics of estradiol, free and total estrone, in young women following single intravenous and oral administration of 17 beta estradiol. Arzneimittelforschung (Drug Res), 9:966-973

Mashchak CA, Lobo RA, Dozono-Takano R, Eggena P, Nakamura RM, Brenner PF et Mishell DR Jr (1986). Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. Am J Obstet Gynecol, 144:511-518

M. Cogliano

193. À mon avis, les conclusions des CE semblent dénoter une préoccupation concernant le caractère variable des concentrations de l'hormone endogène (la variabilité des concentrations d'hormones produites de façon endogène est admise par le Codex). À mon avis, les CE semblent soutenir qu'il n'est pas possible de fixer un seuil pour les doses supplémentaires auxquelles l'homme est exposé en raison des résidus présents dans la viande, parce que cette exposition additionnelle est susceptible de présenter un danger pour certains secteurs de la population.

M. Guttenplan

194. Les conclusions des Communautés européennes mentionnées ci-dessus sont en désaccord avec celles du Codex. La conclusion du JECFA selon laquelle l'œstradiol "a un potentiel génotoxique" a eu un certain effet sur les conclusions des Communautés européennes. Toutefois, comme les CE l'ont également fait remarquer (Avis du CSMVSP, 2002), des méthodes d'analyse plus récentes ont permis d'identifier de nouveaux domaines de préoccupation concernant notamment les effets des hormones sur le développement. Les concentrations d'hormones présentes dans la viande peuvent en effet représenter un accroissement significatif d'hormones endogènes chez les enfants prépubères.

21. **Les preuves scientifiques auxquelles font référence les Communautés européennes démontrent-elles que les cinq hormones autres que l'œstradiol-17 β sont potentiellement génotoxiques lorsqu'elles sont consommées en tant que résidus dans la viande? Votre réponse dépend-elle du fait que les bonnes pratiques vétérinaires aient été respectées? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir entre autres les Avis du CSMVSP et les paragraphes n° 63, 83, 89 à 91 et 93 de la première communication des États-Unis, et les paragraphes 131 à 136 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]**

M. Boisseau

195. La réponse que j'ai donnée à la question n° 16 est applicable à la première partie de cette question.

196. Le fait que les bonnes pratiques vétérinaires soient appliquées ou non n'a pas d'incidence sur le potentiel génotoxique de ces hormones.

197. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Génotoxicité des cinq hormones autres que l'œstradiol-17β

198. Il n'existe pas de preuve du potentiel génotoxique de la testostérone et de la progestérone. Il n'existe aucune preuve concluante de la génotoxicité de l'acétate de trenbolone, de l'acétate de mélengestrol et du zéranol qui ont donné des résultats négatifs dans une série de tests de génotoxicité. Ces composés se sont révélés faiblement positifs à un test des micronoyaux, à des concentrations élevées (potentiellement cytotoxiques). La trenbolone a également généré une faible concentration d'adduits à l'ADN mesurée par post-marquage au phosphore 32 (*Metzler et Pfeiffer, 2001*). Comme cela a été indiqué plus haut, des micronoyaux peuvent se former du fait d'un mécanisme non génotoxique, en particulier à des concentrations susceptibles d'avoir causé une certaine toxicité. En outre, la technique du post-marquage au phosphore 32 n'est pas spécifique et les données citées ci-dessus donnent à penser que la formation d'adduits à l'ADN peut être due à d'autres mécanismes que l'interaction directe avec l'ADN. En aucun cas les composés n'ont généré de réaction mutagène. Ces données sont insuffisantes pour corroborer la conclusion selon laquelle ces hormones sont potentiellement génotoxiques *in vivo*. Il n'existe donc aucune preuve de la génotoxicité de l'une quelconque des hormones *in vivo* aux concentrations trouvées dans la viande d'animaux traités. Même si les bonnes pratiques vétérinaires n'étaient pas appliquées, le niveau d'exposition aux hormones serait tel que l'on ne devrait prévoir aucun effet génotoxique *in vivo*.

199. Ma réponse à cette question aurait été la même lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

Metzler M et Pfeiffer E (2001). Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS, 109:89-95.

M. Guttenplan

200. Les CE n'ont présenté aucune preuve concluante de la génotoxicité potentielle des cinq hormones autres que l'œstradiol-17β lorsqu'elles sont consommées en tant que résidus dans la viande. Il existe quelques preuves indiquant que certaines des hormones ont un potentiel génotoxique, mais ce potentiel est généralement faible. Les tests de génotoxicité menés sur la testostérone et la progestérone sont négatifs. Le zéranol peut induire une transformation des cellules épithéliales du sein en culture avec une efficacité similaire à celle de l'œstradiol, mais le mécanisme n'en est pas connu et le produit se révèle négatif ou marginalement actif dans d'autres essais. Les tests de génotoxicité *in vitro* effectués sur la trenbolone se révèlent négatifs ou montrent une activité marginale. Les tests de génotoxicité sur l'acétate de mélengestrol sont négatifs. Tout effet génotoxique des cinq hormones devrait être réduit par l'observation des bonnes pratiques vétérinaires. Ma réponse concernant les hormones n'aurait pas été différente en septembre 2003 (Avis du CSMVSP, 2002).

22. **Comment définiriez-vous les mécanismes de réparation *in vivo* de l'ADN? Quelle est l'efficacité ou l'importance de ces mécanismes au regard des effets potentiellement génotoxiques des résidus des hormones de croissance en cause lorsqu'ils sont consommés dans la viande? Votre réponse dépend-elle du fait que les bonnes pratiques vétérinaires aient été respectées lors de l'administration de ces hormones? Dans quelle mesure la documentation scientifique mentionnée par les Communautés européennes tient-elle compte de ces mécanismes dans son évaluation de l'éventuelle apparition d'effets indésirables causés par des résidus d'hormones anabolisantes? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003 et, dans l'affirmative, pourquoi? [voir les paragraphes 40 et 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, la note de bas de page 107 de la première communication des États-Unis et le paragraphe 89 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]**

M. Boobis

Mécanismes de réparation de l'ADN

201. Les mécanismes de réparation de l'ADN comprennent une série de systèmes enzymatiques capables de détecter divers types de lésions de l'ADN et de les réparer. Il existe différents systèmes selon le type de substance chimique modificatrice de l'ADN (par exemple groupements alkyles de faible poids moléculaire, groupements aromatiques volumineux, dommages oxydatifs), le site de la lésion (sites O6 ou N7 de la base guanine, par exemple) et la nature du dommage (modifications covalentes, pontages interbrins, cassures monocaténaires, etc.) (révisé dans *Dip et al., 2004; Huffman et al., 2005; Sharova, 2005*). On estime que les processus endogènes sont responsables d'importants dommages oxydatifs de l'ADN, mais il est rare que ceux-ci provoquent des modifications héréditaires de la cellule (*Shigenaga et al., 1989; Pollycove et Feinendegen, 1999*). Cela est dû dans une large mesure au fait que l'organisme a développé un processus de réparation de l'ADN extrêmement souple et efficace. Les lésions de l'ADN causées par des agents exogènes (génotoxines) sont réparées grâce à des mécanismes similaires. C'est pourquoi la formation d'adduits à l'ADN peut être détectée à des doses beaucoup plus faibles qu'une mutation (*Williams et al., 2004*). La partie basse de la courbe dose-réponse n'étant pas linéaire, il est nécessaire que la capacité de réparation de l'ADN soit submergée pour que la mutagénicité croisse comme une fonction linéaire de la dose (*Williams et al., 2004*). L'identification d'un seuil pour de tels effets constitue cependant une difficulté majeure de l'évaluation des risques associés à ces composés. L'explication tient au fait que ces effets se produisent avec une incidence faible et que l'efficacité statistique des études expérimentales est insuffisante pour déterminer la position du seuil avec un quelconque degré de confiance. Par conséquent, bien qu'il reconnaisse que l'existence d'un seuil est vraisemblable, même pour des effets génotoxiques (*Williams et al., 2004*), l'évaluateur de risques se trouve dans l'impossibilité de le placer. La solution de prudence consiste à supposer que la réponse est linéaire et qu'il n'existe aucune dose en deçà de laquelle l'exposition est sans danger (voir par exemple, *UK Committee on Carcinogenicity, 2004*).

202. Comme cela a été indiqué ci-dessus, les preuves vont à l'encontre d'une modification directe de l'ADN *in vivo* par les hormones présentes dans la viande d'animaux traités, ou par des métabolites de ces hormones produits *in vivo*. Des modifications indirectes provoquées par des dérivés réactifs de l'oxygène sont concevables. Les processus de réparation de l'ADN agissant sur ces modifications sont parmi les plus efficaces (*Arai et al., 2006; Russo et al., 2004*), et même si une modification de ce type se produisait, il est à prévoir qu'aucun changement héréditaire n'en résulterait, du fait de la réparation de l'ADN (*Arai et al., 2006*). Cela serait vrai, même aux niveaux d'exposition qui pourraient se produire au cas où les bonnes pratiques vétérinaires n'auraient pas été respectées.

203. Ma réponse aurait été identique au moment de l'adoption de la directive des CE, en septembre 2003.

Dip R, Camenisch U, Naegeli H (2004). Mechanisms of DNA damage recognition and strand discrimination in human nucleotide excision repair. DNA Repair (Amst), 3:1409-1423

Huffman JL, Sundheim O, Tainer JA (2005). DNA base damage recognition and removal: new twists and grooves. Mutat Res, 577:55-76

Sharova NP(2005). How does a cell repair damaged DNA? Biochemistry (Mosc), 70:275-291

Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. Proc Natl Acad Sci U S A, 86:9697-9701

Pollycove M et Feinendegen LE (1999). Molecular biology, epidemiology, and the demise of the linear no-threshold (LNT) hypothesis. C R Acad Sci III, 322:197-204

UK Committee on Carcinogenicity (2004). Guidance on a Strategy for the Risk Assessment of Chemical Carcinogens, Department of Health, London (http://www.advisorybodies.doh.gov.uk/COC/guideline04.pdf)

Williams GM, Iatropoulos MJ et Jeffrey AM (2004). Thresholds for the effects of 2-acetylaminofluorene in rat liver. Toxicol Pathol, 32, Suppl 2:85-9.

M. Guttenplan

Comment définiriez-vous les mécanismes de réparation *in vivo* de l'ADN?

204. On entend par réparation *in vivo* de l'ADN la capacité de l'organisme de supprimer des portions d'ADN endommagées ou ayant subi des modifications chimiques, et de les remplacer par de l'ADN non endommagé.

Quelle est l'efficacité ou l'importance de ces mécanismes au regard des effets potentiellement génotoxiques des résidus des hormones de croissance en cause consommés dans la viande?

205. Les processus de réparation qui interviennent pour les lésions causées à l'ADN par des métabolites d'œstrogènes ne diffèrent en rien de ceux qui sont mis en jeu pour des lésions occasionnées par de nombreux autres agents nuisibles à l'ADN. La plupart des dommages causés par un agent, quel qu'il soit, sont réparés, et il existe une redondance considérable dans les réparations de l'ADN, ce qui garantit leur efficacité. Il est cependant inévitable qu'une petite partie des dommages échappe aux réparations. En fait, une course se joue entre les réparations et la division cellulaire. Si la division cellulaire survient avant la réparation, une mutation ou la mort cellulaire peut survenir. La plupart des processus de réparation de l'ADN des animaux entiers (l'homme y compris) ne sont pas saturés; en effet, un niveau aussi élevé d'activité serait vraisemblablement le signe de la présence de concentrations extrêmement toxiques de cancérogènes. Certains processus de réparation de l'ADN sont imparfaits (sujets à erreur). Ils permettent à la cellule de survivre à des lésions de l'ADN susceptibles de causer leur mort, mais ils entraînent un accroissement du taux de mutation dans la cellule. L'augmentation du taux de mutation renforce le risque de cancer. Il n'y a aucune raison de supposer que les processus mis en œuvre pour réparer les lésions de l'ADN causées par les métabolites d'œstrogènes sont plus, ou moins, efficaces que ceux qui interviennent dans les réparations des dommages d'autres cancérogènes.

Votre réponse dépend-elle du fait que les bonnes pratiques vétérinaires aient été respectées lors de l'administration de ces hormones?

206. NON.

Dans quelle mesure la documentation scientifique mentionnée par les Communautés européennes tient-elle compte de ces mécanismes dans son évaluation de l'éventuelle apparition d'effets indésirables causés par des résidus d'hormones de croissance?

207. Dans sa grande majorité, la documentation scientifique évoquée par les Communautés européennes n'aborde aucunement le sujet des réparations de l'ADN. Toutefois, étant donné qu'il n'y a probablement aucune différence entre les dommages dus aux œstrogènes et les autres types de dommages, cela n'a pas vraiment d'importance. Les Avis du CSMVSP mentionnent certaines informations selon lesquelles il peut se produire des réparations susceptibles d'erreur de certaines lésions causées par des œstrogènes.

Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003 et, dans l'affirmative, pourquoi?

208. NON.

Lindahl T. Wood RD. Quality control by DNA repair. Science. 286(5446):1897-905, 1999. Paragraphes 40 et 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, note de bas de page 107 de la première communication des États-Unis et paragraphe 89 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation.

23. Dans quelle mesure est-il nécessaire ou possible de tenir compte de la "longue période de latence" du cancer dans la conduite d'une évaluation des risques, qui est censée évaluer les effets cancérigènes de ces hormones lorsqu'elles sont consommées dans la viande? Les hormones en cause dans le présent différend ont-elles été utilisées comme activateurs de croissance pendant un nombre d'années suffisant pour qu'une évaluation de leurs effets à long terme sur la santé des personnes puisse être effectuée? [voir le paragraphe 149 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis) et le paragraphe 143 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada)]

M. Boisseau

209. Je ne pense pas qu'il soit possible ni utile de tenir compte de la "longue période de latence" du cancer pour évaluer de manière appropriée et précise les effets cancérigènes des résidus d'hormones naturelles résultant uniquement du traitement de boucherie au moyen d'hormones anabolisantes. À mon avis, des études épidémiologiques menées sur l'homme pendant une durée suffisante pour tenir compte de cette "longue période de latence" du cancer ne seraient pas en mesure de discerner, dans le cas d'une augmentation éventuelle mais limitée des tumeurs, si cet effet est attribuable 1) aux résidus d'hormones issus du traitement aux hormones anabolisantes d'animaux de boucherie, 2) aux résidus d'hormones provenant de la production endogène de ces animaux, ou 3) à d'autres composantes de la ration alimentaire et notamment à d'autres additifs et contaminants alimentaires. C'est la raison pour laquelle, à ma connaissance, bien que les hormones en cause dans ce différend aient déjà été utilisées comme anabolisants pendant un nombre d'années suffisant, les études épidémiologiques menées sur l'homme dans ce domaine n'ont réussi à déceler aucun rapport entre la survenue de tumeurs hormonodépendantes et la consommation de viande contenant des résidus à activité hormonale issus du traitement des animaux par les activateurs de croissance.

M. Boobis

Période de latence du cancer

210. La période de latence est un élément important dans l'évaluation des risques, aussi bien pour la conception des études que pour l'interprétation de leurs résultats. Ainsi, la durée d'exposition des animaux de laboratoire ou des sujets d'une étude épidémiologique doit être suffisamment longue pour permettre d'évaluer les effets à longue période de latence. La plupart des formes de cancer appartiennent à cette catégorie. Les études d'observation sur l'homme (concernant par exemple les traitements hormonaux substitutifs ou les contraceptifs oraux) et les études expérimentales sur les animaux ont couvert une période suffisamment prolongée pour tenir compte de la période de latence de n'importe quel effet cancérogène des hormones (voir *CIRC, 1999*).

211. Les études à long terme relatives aux hormones réalisées sur des animaux de laboratoire et sur l'homme ont mis en jeu des doses très supérieures à celles qui pourraient résulter de la consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes. Le risque maximal associé à des niveaux d'exposition aussi faibles est si réduit, même en supposant que la relation dose-réponse est linéaire pour le cancer, que des populations extrêmement nombreuses devraient être étudiées pour détecter une augmentation quelconque de l'incidence du cancer, en particulier si l'on tient compte du fait que les cancers les plus probables sont relativement courants. La raison en est que plus le risque est faible, plus le nombre de sujets nécessaires pour le détecter est élevé, en fonction de la puissance de l'étude qui prend en compte l'ordre de grandeur du risque et la différence avec le taux naturel (*Hunter, 1997*). En conséquence, il est douteux qu'une augmentation du risque, si tant est qu'elle se produise, puisse être détectée dans les populations exposées, dans le cadre de l'évaluation des risques liés aux hormones utilisées comme activateurs de croissance. Toutefois, la nécessité d'assurer une protection contre un tel risque subsiste. L'évaluation des risques associés aux hormones réalisée par le JECFA a donné à entendre que les risques sont inexistantes à des niveaux d'exposition inférieurs à la DJA respective. Même si la durée de l'exposition était suffisamment longue (habituellement de 20 à 25 ans pour des tumeurs solides), une augmentation du risque ne pourrait probablement pas être détectée. Un résultat négatif obtenu par une étude d'observation de ce type ne résoudrait donc pas le problème.

212. Un deuxième aspect, en ce qui concerne la latence, est l'importance qu'elle a pour l'interprétation du schéma d'exposition. Lorsque la latence est longue, et qu'une exposition régulière est nécessaire avant qu'une réponse cancérogène ne se manifeste, comme cela semble être le cas pour les hormones en question (*Coombs et al., 2005*), des expositions sporadiques à des doses supérieures à la DJA ne représentent aucun risque supplémentaire (*Larsen and Richold, 1999*). La latence est donc importante pour l'évaluation des risques provoqués par différents types d'exposition.

Coombs NJ, Taylor R, Wilcken N, Fiorica J et Boyages J (2005). Hormone replacement therapy and breast cancer risk in California. Breast J, 11:410-415

Hunter DJ (1997). Methodological issues in the use of biological markers in cancer epidemiology: cohort studies. IARC Sci Publ, 142:39-46

CIRC (1999). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol 72. Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy, CIRC, Lyon, France

Larsen JC et Richold M (199). Report of workshop on the significance of excursions of intake above the ADI. Regul Toxicol Pharmacol, 30:S2-12.

M. Cogliano

213. Il faut sans aucun doute tenir compte de la période de latence du cancer dans la conduite d'une évaluation des risques. À cet égard, les lignes directrices relatives à l'élaboration des *Monographies du CIRC* font observer que "l'expérience acquise en ce qui concerne le cancer humain indique que la période qui s'écoule entre la première exposition et l'apparition du cancer clinique dépasse parfois 20 ans; des périodes de latence très inférieures à trente ans ne peuvent pas fournir la preuve d'une absence de cancérogénicité". [Centre international de recherche sur le cancer, Préambule aux *Monographies du CIRC*, <http://monographs.iarc.fr>]

M. Guttentplan

214. La période de latence est extrêmement importante lorsque des données épidémiologiques sont utilisées pour réaliser une évaluation des risques. En général une période de 20 ans est adoptée pour le cancer, mais cela varie selon le cancérogène. De fait, il est nécessaire de déterminer l'incidence ou la prévalence à divers intervalles à compter du début de l'exposition. Toute tentative visant à effectuer une évaluation des risques fondée sur des données épidémiologiques obtenues trop rapidement après le début de l'exposition peut se solder par une grave sous-estimation du risque. En ce qui concerne les hormones présentes dans la viande, il semble qu'elles soient maintenant consommées depuis un nombre d'années suffisant pour que des augmentations fortes ou modérées du risque puissent être observées. Toutefois, si l'augmentation du risque est faible, il peut être difficile de disposer d'une population identifiable, suffisamment nombreuse, et qui ait été exposée pendant une longue durée.

Lagiou P. Trichopoulou A. Trichopoulos D. Nutritional epidemiology of cancer: accomplishments and prospects. [Lectures] Proceedings of the Nutrition Society. 61(2):217-22, 2002. Paragraphe 149 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), paragraphe 143 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada).

24. Dans quelle mesure est-il possible d'identifier d'éventuels facteurs de confusion provoquant le cancer et de les attribuer à des sources identifiées? Quelles sont les répercussions de ces facteurs sur la conduite d'une évaluation des risques visant à estimer les effets indésirables causés par la présence de résidus d'hormones anabolisantes dans la viande? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi?

M. Boisseau

215. D'une manière générale il est très difficile d'identifier d'éventuels facteurs de confusion provoquant le cancer et de les attribuer à des sources identifiées. La réponse donnée à la question n° 23 s'applique également à la question n° 24.

216. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Facteurs de confusion dans l'attribution du cancer

217. Bien que les causes de nombreux cancers ne soient toujours pas connues (ces causes sont vraisemblablement plurifactorielles), d'importants facteurs de risque ont été détectés pour un certain nombre d'entre eux. Les principaux cancers hormonodépendants sont les cancers du sein, des ovaires et de l'endomètre chez la femme, et les cancers des testicules et de la prostate chez l'homme (*CIRC*,

1999). Chez les femmes, certains facteurs génétiques, en particulier les gènes *BRCA1* et 2, ont une forte influence sur un petit nombre de cancers du sein (Wooster et Weber, 2003). Un certain nombre d'aspects du mode de vie, qui agissent généralement sur les concentrations d'œstrogènes en circulation, ont une incidence sur les cancers du sein et de l'ovaire (Amant et al., 2005; Henderson et Feigelson, 2000; Vogel et Taioli, 2006). Parmi eux figurent notamment la parité (le nombre d'enfants), l'âge au premier accouchement, l'âge à la première instauration des règles, l'état ménopausé. Il existe en outre des associations entre les cancers hormonodépendants, chez l'homme et chez la femme, et le régime alimentaire, par exemple la consommation de graisse et de viande (Colli et Colli, 2006; Gonzalez, 2006; Kushi et Giovannucci, 2002; Rieck et Fiander, 2006; Shirai et al., 2002; Wakai et al., 2005). L'exposition exogène à des concentrations élevées d'hormones telles que l'œstradiol peut provoquer un cancer (JECFA, 2000b; CIRC, 1999). Toutefois, s'il est vrai que l'hormonothérapie de substitution et les stéroïdes contraceptifs oraux représentent, en matière d'exposition, des ordres de grandeur supérieurs à ceux qui sont produits par la consommation de viande d'animaux traités, le risque relatif (RR) reste relativement faible (RR de 1,3 pour une hormonothérapie de substitution faisant intervenir uniquement des œstrogènes (Beral, 2003), RR de 1,24 chez les femmes prenant des stéroïdes contraceptifs oraux combinés (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2006). Ces risques n'ont été détectés que parce que des populations très importantes sont en jeu.

218. Un certain nombre de ces facteurs sont susceptibles de biaiser l'analyse des effets de la présence d'hormones anabolisantes dans la viande (ils ne devraient pas avoir d'influence sur l'évaluation des risques, mais sur l'interprétation des données utilisées dans cette évaluation). Par exemple, les différences socioéconomiques et démographiques qui interviennent dans le choix du mode de vie et le régime alimentaire risquent de dénaturer entièrement les comparaisons des expositions aux hormones anabolisantes présentes dans la viande. La consommation de viande, que celle-ci provienne ou non d'animaux traités aux hormones anabolisantes, constitue en soi un facteur de risque pour un certain nombre de cancers hormonodépendants, notamment pour le cancer du sein chez la femme et le cancer de la prostate chez l'homme (Colli et Colli, 2006; Gonzalez, 2006). L'âge moyen de la première grossesse, qui est un choix de mode de vie, est notoirement plus élevé dans certains pays que dans d'autres (Beets, 1999; Commission économique des Nations Unies pour l'Europe (2003)), de même que le statut socioéconomique (Robert et al., 2004). Ainsi, tout effet apparent de l'exposition aux hormones anabolisantes présentes dans la viande d'animaux traités peut être parasité par d'autres facteurs de risque connus. Il est parfois possible d'éliminer les biais de confusion, mais, lorsque le risque que présente le facteur confondant est notablement plus élevé que le risque lié à l'exposition d'intérêt, ce qui est probablement le cas ici, il est très difficile de tenir compte de tous les facteurs de confusion (voir par exemple Toledano et al., 2005). Des facteurs de confusion résiduels risquent encore de fausser le résultat, occultant une différence nulle.

219. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E et Vergote I (2005). *Endometrial cancer. Lancet*, 366:491-505

Beets G (1999). *Education and age at first birth. DEMOS, 15 (Special Issue)*

Beral V (2003). *Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. Lancet*, 362:419-427. Erratum in: *Lancet*, 2003, 362:1160

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (1996). *Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast*

cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet*, 347:1713-1727

Colli JL et Colli A (2006). *International comparisons of prostate cancer mortality rates with dietary practices and sunlight levels. Urol Oncol*, 24:184-194

Gonzalez CA (2006). *The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Public Health Nutr*, 9:124-126

Henderson BE et Feigelson HS (2000). *Hormonal carcinogenesis. Carcinogenesis*, 21:427-433

JECFA (2000b). *Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food: Who Food Additives Series 43, OMS, Genève, Suisse*

Kushi L et Giovannucci E (2002). *Dietary fat and cancer. Am J Med*, 113, Suppl 9B:63S-70S

Rieck G et Fiander A (2006). *The effect of lifestyle factors on gynaecological cancer. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 20:227-251

Robert SA, Strombom I, Trentham-Dietz A, Hampton JM, McElroy JA, Newcomb PA et Remington PL (2004). *Socioeconomic risk factors for breast cancer: distinguishing individual- and community-level effects. Epidemiology*, 15:442-450

Shirai T, Asamoto M, Takahashi S et Imaida K (2002). *Diet and prostate cancer. Toxicology*, 181-182:89-94

Toledano MB, Nieuwenhuijsen MJ, Best N, Whitaker H, Hambly P, de Hoogh C, Fawell J, Jarup L et Elliott P (2005). *Relation of trihalomethane concentrations in public water supplies to stillbirth and birth weight in three water regions in England. Environ Health Perspect*, 113:225-232

Commission économique des Nations Unies pour l'Europe (2003). *Trends in Europe and North America*

Vogel VG et Taioli E (2006). *Have we found the ultimate risk factor for breast cancer? J Clin Oncol*, 24:1791-1794

Wakai K, Tamakoshi K, Date C, Fukui M, Suzuki S, Lin Y, Niwa Y, Nishio K, Yatsuya H, Kondo T, Tokudome S, Yamamoto A, Toyoshima H et Tamakoshi A; JACC Study Group (2005). *Dietary intakes of fat and fatty acids and risk of breast cancer: a prospective study in Japan. Cancer Sci*, 96:590-599

Wooster R et Weber BL (2003), *Breast and ovarian cancer, N Engl J Med* 348:2339-2347

M. Cogliano

220. Il est généralement possible d'identifier les facteurs de confusion dans une étude épidémiologique. [À noter que la question mentionne des "facteurs cofondateurs" (*co-founding factors*).] Toutefois, il est souvent difficile de déterminer si les tumeurs observées sont attribuables à l'agent qui fait l'objet de l'étude ou à un facteur de confusion. Lorsqu'une interprétation causale est crédible mais qu'il est impossible d'exclure des facteurs de confusion, le CIRC estime qu'il existe une *preuve limitée de cancérogénicité*.

M. Guttenplan

221. La question mentionne le terme cofondateurs (*co-founding*), selon les documents présentés, mais il s'agit probablement de facteurs "de confusion" (*confounding*), c'est-à-dire de facteurs autres que celui qui fait l'objet de l'enquête mais qui peuvent également avoir une relation avec la maladie cible à évaluer. Par exemple, si les personnes qui mangent de la viande sont également obèses, les effets observés peuvent provenir de l'obésité et non de la consommation de viande (bien qu'il puisse y avoir une liaison entre les deux). Il serait très difficile d'identifier tous les facteurs de confusion dans une étude portant sur le rapport entre la consommation de viande et le cancer, même si de nombreux modèles ont été élaborés concernant les effets des agents nutritionnels sur l'incidence du cancer. Il faudrait pour cela disposer d'un groupe de consommateurs de viande traitée aux hormones et d'un groupe de consommateurs de viande non traitée, les deux groupes étant parfaitement appariés et partageant le même "mode de vie". Cela est probablement difficile à réaliser dès lors que les individus qui consomment de la viande non traitée aux hormones sont certainement des personnes qui font très attention à leur santé ou qui habitent dans une région géographique différente. De fait, il est possible de détecter un certain nombre de facteurs de confusion (âge, race, sexe, médication, par exemple), mais l'on ne peut jamais être sûr de les avoir identifiés en totalité ou même en majorité. Ces considérations sont importantes pour l'évaluation des risques d'effets indésirables causés par la présence de résidus d'hormones anabolisantes dans la viande, dans la mesure où les effets des hormones (s'ils existent) sont probablement faibles et susceptibles d'être masqués par des facteurs de confusion. Cette réponse n'aurait pas été différente en 2003.

Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. [Review] Journal of the National Cancer Institute. 91(11):916-32, 1999

25. Dans quelle mesure les trois études récentes auxquelles font allusion les Communautés européennes confirment-elles l'existence d'un risque dû à la consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes pour la santé des personnes? Veuillez également commenter la déclaration des CE selon laquelle une des études "a été réalisée après l'adoption de l'interdiction d'utiliser des hormones à des fins anabolisantes en Europe, ce qui signifie que les sujets doivent avoir été exposés à des viandes dépourvues d'hormones dans leur régime alimentaire. Cela peut signifier en outre que l'on ne peut exclure la possibilité d'une augmentation du risque de cancer en cas de consommation de viandes traitées aux hormones anabolisantes." [voir les paragraphes 145 à 148 de la communication présentée par les CE à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 139 à 142 de la communication présentée par les CE à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), la note de bas de page 97, au paragraphe 147 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis) et les pièces EC-71, 72 et 73]

M. Boisseau

222. Mon commentaire concernant le zéranol, qui figure dans ma réponse à la question n° 13, est applicable à la première étude relative au zéranol mentionnée dans la présente question n° 25.

223. Ma réponse à la question n° 23 peut être utilisée pour répondre à la demande de commentaire concernant la deuxième étude relative au risque de cancer colorectal mentionnée dans la présente question n° 25.

224. Les commentaires demandés sur la déclaration des CE selon laquelle une des études "a été réalisée ... aux hormones anabolisantes" peuvent être dérivés des conclusions très prudentes tracées par le CSMVSP dans son rapport de 1999, qui indiquent que "le lien, si tant est qu'il existe, avec la consommation de viande traitée aux hormones ne peut être, actuellement, ni confirmé ni réfuté ... il

existe des preuves modérément convergentes indiquant que l'augmentation de la consommation de viande ... est associée à l'accroissement du risque de cancer du sein ... il a donc été conclu que les régimes alimentaires à forte proportion de viande peuvent augmenter le risque de cancer de la prostate ... il existe des preuves faiblement convergentes indiquant que la consommation totale de viande est associée au risque de cancer de la prostate. Dans le cas de la viande rouge, les preuves sont modérément convergentes". Pour conclure, cette déclaration des CE exprime simplement une préoccupation, mais n'apporte aucune preuve scientifique à l'appui de cette préoccupation.

225. La troisième étude sur le traitement des femmes post-ménopausiques mentionnée dans les références de cette question n° 25 ne correspond pas au sujet traité.

M. Boobis

Les trois études publiées récemment auxquelles font allusion les CE (à noter que les pièces pertinentes des CE sont respectivement les pièces EC-062, 071 et 072)

- a) Liu S et Lin YC (2004). Transformation of MCF-10A human breast epithelial cells by zeranol and oestradiol-17beta (*Transformation des cellules épithéliales mammaires humaines de la lignée MCF-10A par le zéranol et l'œstradiol-17β*). Breast J, **10**:514-521

226. Ce document décrit les effets de l'œstradiol-17β et du zéranol sur la lignée de cellules mammaires cancéreuses MCF-10A. Cette lignée de cellules est dépourvue de récepteurs des œstrogènes α (ERα) et possèdent peu ou pas de récepteurs des œstrogènes β (ERβ). Les données montrent qu'à la suite d'expositions multiples, les deux composés ont produit des modifications caractéristiques d'une transformation maligne dans les cellules. Il convient toutefois de remarquer que la malignité des cellules n'a pas été testée par inoculation sur des animaux, qui constitue la preuve définitive qu'une transformation complète s'est produite. Les doses de composés utilisées étaient élevées, en particulier pour les effets observés sur les cellules MCF-7 (cellules ERα positives) pour lesquelles la EC50 pour la prolifération est d'environ 2 pM (voir concentration minimale avec effet nocif observé de 15 nM dans la présente étude). Il ne s'est pas produit de modification de la réponse selon la concentration dans les cellules MCF-10A. Aucune démonstration de la capacité métabolique des cellules n'a été donnée par les auteurs ou par d'autres chercheurs. La puissance des deux composés était la même dans les cellules ERα négatives (MCF-10A) que dans les cellules ERα positives (MCF7). Cela est quelque peu surprenant étant donné la différence bien connue de la puissance œstrogène (*Le Guevel et Pakdel, 2001*) et de la puissance génotoxique (*Metzler et Pfeiffer, 2001; Stopper et al., 2003*) des deux composés.

227. Toutefois, les deux composés semblent produire une réponse positive dans les cellules, ce qui est en accord avec les études antérieures sur cette lignée cellulaire (*Russo et al., 2002*). Il est cependant bien établi que les œstrogènes peuvent se révéler génotoxiques dans certains systèmes d'essais *in vitro*, très probablement comme conséquence d'un cycle d'oxydo-réduction avec génération de dérivés réactifs de l'oxygène. Des preuves de ce mécanisme ont été apportées récemment par *Cuendet et al. (2004)*. Comme cela a été indiqué ci-dessus, la génotoxicité due à ce mécanisme devrait présenter un seuil. Par ailleurs, cette génotoxicité est freinée par les systèmes de défense antioxydants et du fait de l'efficacité des mécanismes de réparation des dommages causés à l'ADN par les oxydants. L'étude de Liu et Lin (2004) ne confirme donc pas le risque que présente la consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes pour la santé des personnes.

Cuendet M, Liu X, Pisha E, Li Y, Yao J, Yu L et Bolton JL (2004). Equine estrogen metabolite 4-hydroxyequilenin induces anchorage-independent growth of human mammary epithelial MCF-10A cells: differential gene expression. Mutat Res, 550:109-121

Le Guevel R et Pakdel F (2001). Assessment of oestrogenic potency of chemicals used as growth promoter by in-vitro methods. Hum Reprod, 16:1030-1036

Russo J, Lareef MH, Tahin Q, Hu YF, Slater C, Ao X et Russo IH(2002). 17Beta-estradiol is carcinogenic in human breast epithelial cells. J Steroid Biochem Mol Biol, 80:149-16.

- b) Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San Joaquin M, Hemon B, Saracci R, Kaaks R et Riboli E (2005). Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition (*Viande, poisson et risque de cancer colorectal: Étude prospective européenne sur le cancer et la nutrition*). J Natl Cancer Inst, 97:906-916

228. Ce document rend compte des résultats d'une étude épidémiologique prospective sur la relation entre le régime alimentaire et le cancer colorectal. L'étude, menée sur un grand nombre de sujets, confirme de précédents rapports faisant état d'une association statistiquement significative entre la consommation de viande rouge et le risque de développement de cancer colorectal. Cette association est connue depuis un certain temps (voir, par exemple, *Modan, 1977*). Il s'agit, de plus, d'une observation relativement cohérente, indépendante de la zone géographique (sous réserve de la prise en compte d'éventuelles interférences dues à des facteurs de risque connus) (*Marques-Vidal et al., 2006*). Un certain nombre d'explications plausibles ont été proposées pour cette association, notamment la formation de mutagènes pendant la cuisson de la viande (*Sinha et al., 2005*), et la création de composés nitreux dans le côlon par suite des effets du fer héminique. La variation géographique du risque est en accord avec la thèse selon laquelle la consommation de viande joue un rôle dans la survenue du cancer colorectal, mais elle apporte peu de soutien à celle de la contribution des hormones présentes dans la viande du fait de leur utilisation en tant qu'activateurs de croissance. Cela est dû au fait que l'association est exactement la même dans les régions du globe où les hormones ne sont pas utilisées et dans celles où elles le sont. Les taux normalisés de cancer colorectal selon l'âge chez les hommes et les femmes sont de 48,2 et 36,9 en Australasie, de 44,4 et 32,8 en Amérique du Nord, de 37,5 et 26,4 en Europe du Nord et de 35,9 et 23,5 en Europe du Sud (*CIRC, GLOBOCAN 2002*). En comparaison, la consommation de viande exprimée en protéine est la suivante: Australie 40,3 g/jour, États-Unis 40,2 g/jour et Europe 25,2 g/jour (*FAO, 2003*).

229. L'étude de Norat *et al.* (2005) ne confirme donc pas le risque que présente pour la santé des personnes la consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes.

Cross AJ, Pollock JR, Bingham SA (2003). Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. Cancer Res, 63:2358-2360

FAO (2003). FAOSTAT (<http://faostat.fao.org/>)

CIRC (2002). GLOBOCAN (<http://www-dep.iarc.fr/>)

Marques-Vidal P, Ravasco P et Ermelinda Camilo M (2006). Foodstuffs and colorectal cancer risk: a review. Clin Nutr, 25:14-36

Modan B (1977). Role of diet in cancer etiology. Cancer, 40 (4 Suppl):1887-1891

Sinha R, Peters U, Cross AJ, Kulldorff M, Weissfeld JL, Pinsky PF, Rothman N et Hayes RB (2005). Meat, meat cooking methods and preservation, and risk for colorectal adenoma. Cancer Res, 65:8034-8041

- c) Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM et Ockene J; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators (2002). Risks and benefits of oestrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial (*Risques et bénéfices de l'association œstrogène-progestine chez les femmes post-ménopausiques en bonne santé: principaux résultats de l'étude contrôlée randomisée de la WHI*). JAMA, 288:321-333

230. Cet article donne les résultats d'un essai contrôlé randomisé sur l'usage d'une association d'œstrogène et de progestine en tant que traitement hormonal substitutif. Le risque relatif (HR) de cancer du sein dans le groupe recevant des hormones était de 1,26 (IC de 95 pour cent: 1,00-1,59). Il s'est produit une réduction du risque de cancer colorectal (0,63; 0,43-0,92), mais aucune modification du risque de cancer de l'endomètre (0,83; 0,47-1,47). Cette étude confirme un certain nombre de rapports antérieurs concernant le fait que l'exposition des femmes post-ménopausiques à une combinaison œstrogène-progestine augmente le risque de cancer du sein (voir ci-dessus; *Beral, 2003*). Le JECFA a pris acte de cette conclusion dans son évaluation des risques concernant ces hormones (*JECFA, 2000b*). Toutefois, la pertinence de cette découverte pour le risque lié à la présence dans la viande de résidus d'hormones en raison de leur utilisation en tant qu'activateurs de croissance dépend des conclusions de l'évaluation des risques. En conséquence, comme cela a été expliqué ci-dessus, le poids de la preuve indique que les hormones causent le cancer par un mécanisme qui présente un seuil. Tant que l'exposition ne dépasse pas systématiquement la DJA, il ne devrait pas y avoir de risque appréciable pour la santé des personnes. À ce propos, les doses auxquelles ont été soumises les femmes faisant l'objet d'un traitement hormonal substitutif dans le cadre de cette étude étaient plusieurs fois supérieures aux doses auxquelles des consommateurs seraient exposés en cas de consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes.

231. L'étude de Rossouw *et al.* (2002) ne confirme donc pas le risque que présente la consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes pour la santé des personnes.

232. L'importance du fait qu'une des études (*Norat et al., 2005*) ait été mise en œuvre après l'interdiction de l'utilisation d'hormones à des fins anabolisantes en Europe, comme l'ont déclaré les CE, dépend de l'interprétation de l'évaluation des risques. Si la consommation de viande d'animaux traités aux hormones ne présente aucun risque, comme le soutient le JECFA, le fait que l'étude ait été menée avant ou après l'interdiction n'a aucune importance et le risque ne varie pas. Si le risque n'est pas nul, comme l'insinuent les CE, il est certain qu'il pourrait se présenter un risque supplémentaire en cas de consommation de ces viandes. Toutefois, comme je l'ai indiqué ailleurs dans mes réponses, les preuves vont à l'encontre d'une augmentation du risque du fait de ces expositions. En outre, la déclaration des CE n'est pas défendable d'un point de vue scientifique. Le risque de cancer associé à la consommation de viande d'animaux traités n'a pas été mesuré. De ce fait, il est impossible de déduire quoi que ce soit de ce risque s'il ne se produit pas d'exposition. Cette remarque est fondée uniquement sur des conjectures, et les CE auraient pu la faire en l'absence de toute étude.

M. Cogliano

233. L'étude de Norat *et al.* (2005) indique un risque pour la santé des personnes lié à la consommation de viande. Les deux autres études évoquent un risque pour la santé des personnes (le verbe "évoquer" a été choisi de préférence au verbe "indiquer" parce que les degrés d'exposition pris en compte dans ces études sont supérieurs à ceux que l'on trouve dans les résidus de viande).

Lorsqu'une étude de nutrition comporte des expositions à des viandes dépourvues d'hormones, le niveau de risque observé s'en trouve réduit. Il s'ensuit que le risque lié à l'exposition à des viandes contenant des hormones est probablement plus élevé que ce qui a été indiqué dans l'étude.

M. Guttenplan

234. La première étude évoque un risque lié au zéranol. Cette observation n'avait pas été signalée auparavant. Toutefois, les résultats ont été obtenus dans des cellules en culture et leur applicabilité à l'exposition des personnes à la viande traitée aux hormones ne peut pas être extrapolée de cette étude en raison de la myriade d'incertitudes que ferait naître une telle extrapolation. L'étude donne bien à entendre que des essais additionnels sur le zéranol devraient être effectués. Il existe également certaines preuves de dommages oxydatifs induits par un métabolite du zéranol (la zéaralénone) dans des cellules en culture. Encore une fois, cependant, cet éventuel effet génotoxique ne peut pas être extrapolé à la consommation de viande. Les deux autres études n'apportent pas de confirmation de l'existence d'un risque lié à la viande traitée aux hormones. La déclaration selon laquelle une des études a été réalisée après l'adoption de l'interdiction d'utiliser des hormones à des fins anabolisantes en Europe ôte toute pertinence à la connexion éventuelle entre la consommation de viande traitée aux hormones et le cancer.

26. Les preuves scientifiques, en particulier les études épidémiologiques, auxquelles font référence les Communautés européennes mettent-elles en évidence un rapport entre le cancer et les résidus d'activateurs de croissance hormonaux? Dans leur évaluation des risques de 1999, les Communautés européennes font allusion aux taux plus élevés de cancers du sein et de la prostate observés aux États-Unis par rapport aux Communautés européennes. Est-il possible d'établir un lien entre ces statistiques et la consommation de viande d'animaux traités à l'aide des hormones mises en cause? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir les pages 17 à 19 de l'Avis du CSMVSP de 1999 et les tableaux connexes A4 et A5, pages 83 à 91]

M. Boisseau

235. Mes réponses aux questions n° 23 et 25 s'appliquent également à cette question n° 26.

236. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Importance des études épidémiologiques pour le risque lié aux hormones

237. Des informations concernant cette question figurent dans mes réponses aux questions n° 24 et 25 ci-dessus.

238. Aucune preuve scientifique ne démontre l'existence d'un lien entre la consommation de viande d'animaux traités aux hormones anabolisantes et le risque de cancer chez l'homme. Certaines études vont dans le sens d'un tel lien, mais leurs résultats peuvent avoir plusieurs autres explications, dont certaines constituent des causes plus plausibles que la présence d'hormones dans la viande. En outre, il existe un certain manque de cohérence dans les études épidémiologiques entre les liens observés et l'utilisation des hormones anabolisantes.

239. Un nombre appréciable d'études signalent un lien entre le risque d'apparition de certains types de cancer, notamment de cancer du sein et de cancer de la prostate, et la consommation de viande

(Colli et Colli, 2006; Norat et al., 2005; voir aussi Avis du CSMVSP, 1999). L'incidence du cancer du sein est similaire dans les pays développés d'Europe de l'Ouest, d'Amérique du Nord et d'Australasie. Il existe une forte corrélation entre ce cancer et la consommation de viande, mais peu de rapport avec le fait que la viande provienne ou non d'animaux traités aux hormones anabolisantes. Ainsi, les taux observés en Islande (87,2/100 000), où ces hormones ne sont pas utilisées, ne sont pas différents de ceux des États-Unis (101,1/100 000), où elles le sont. Les taux de cancer de la prostate sont de 124,8/100 000 aux États-Unis et de 90,9/100 000 en Suède (CIRC, 2002). Comparativement, la consommation moyenne journalière de viande (en tant que protéine) en 2000 était la suivante: États-Unis 40,2 g/jour, Islande 29,5 g/jour, Suède 24,8 g/jour (FAO, 2003). Le risque de cancer du sein ou de la prostate est donc lié beaucoup plus étroitement à la consommation de viande qu'à l'utilisation d'hormones anabolisantes pour traiter les animaux. Par ailleurs, il est important de ne pas attacher une importance exagérée aux variations d'origine géographique des taux d'incidence du cancer. Il faut en effet tenir compte de ce que l'on nomme le sophisme écologique, qui consiste à supposer qu'une corrélation entre des variables obtenues à partir de données correspondant à des agrégats sociaux ou autres (unités écologiques) est applicable au niveau des individus (unités individuelles) (Society for Risk Assessment, 2004). Le problème tient au grand nombre des facteurs qui varient entre les populations, notamment l'ethnicité, la génétique, le niveau économique et le niveau de santé, le régime alimentaire, le mode de vie et l'environnement. Même si l'on ne tient pas compte de l'existence éventuelle de facteurs de confusion, ce type de données écologiques n'est utilisable que pour avancer des hypothèses (Morgenstern, 1995). Celles-ci doivent être évaluées au moyen de recherches plus structurées dans lesquelles les variables parasites sont soumises à un contrôle plus rigoureux.

Morgenstern H (1995). *Ecologic studies in epidemiology: concepts, principles, and methods*. *Annu Rev Public Health*, 16:61-81

Society for Risk Assessment (2004). *Glossary of Risk Analysis Terms*. (http://www.sra.org/resources_glossary.php)

240. Ma réponse aurait été la même lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003. Bien que certaines des études mentionnées ci-dessus n'aient pas été publiées à cette époque, il existait des informations suffisantes pour mettre en lumière la correspondance manifeste entre la consommation de viande et le risque de cancer du sein ou de la prostate, indépendamment de la situation en matière d'utilisation d'hormones anabolisantes.

M. Cogliano

241. La différence entre les États-Unis et les Communautés européennes en ce qui concerne les taux de cancers du sein et de la prostate a presque certainement des causes multiples. Il est possible que les différences d'exposition aux hormones exogènes soient l'une d'entre elles, mais les données ne sont pas suffisantes pour établir un lien entre ces observations.

M. Guttenplan

242. Les études épidémiologiques ne font pas apparaître de relation entre le cancer et les résidus d'activateurs de croissance hormonaux. Les affirmations selon lesquelles les taux de cancers du sein et de la prostate observés aux États-Unis sont plus élevés que dans les Communautés européennes ne sont guère convaincantes dans la mesure où ces taux varient considérablement dans les diverses régions géographiques. Par ailleurs, les différences des taux de cancers du sein et de la prostate entre les États-Unis et les Communautés européennes sont relativement faibles. Il n'y a aucun moyen d'établir de façon catégorique un lien entre ces données statistiques et la consommation de viande d'animaux traités à l'aide des hormones en cause, en raison de l'existence de nombreux facteurs de confusion possibles et des faibles différences entre les taux de cancer. Toutefois, les résultats ne sont

pas incompatibles avec un effet éventuel des hormones sur le cancer du sein et le cancer de la prostate. Ma réponse n'aurait pas été différente en 2003.

Pages 17 à 19 de l'Avis du CSMVSP de 1999 et tableaux connexes A4 et A5, pages 83 à 91.

b) Analyse des résidus

27. En quoi les résidus présents dans la viande de bovins traités à l'aide des trois hormones anabolisantes de synthèse diffèrent-ils des résidus présents dans la viande de bovins traités à l'aide des trois hormones anabolisantes naturelles en cause?

M. Boisseau

243. Les résidus présents dans la viande de bovins traités à l'aide des trois hormones anabolisantes de synthèse diffèrent de ceux qui se trouvent dans la viande de bovins traités au moyen des trois hormones anabolisantes naturelles parce que les substances d'origine sont des produits chimiques différents, possédant des propriétés toxicologiques et physiologiques spécifiques et que, de ce fait, les résidus qui en sont issus sont eux-mêmes des produits chimiques différents, associés à des propriétés toxicologiques et physiologiques spécifiques.

M. De Brabander

244. Les résidus des trois hormones anabolisantes de synthèse sont des substances exogènes: elles ne sont pas présentes dans l'organisme d'un être humain ou d'un animal en bonne santé.

245. La structure des hormones de synthèse est différente de celle des hormones naturelles. Le mélengestrol et la trenbolone pourraient être considérés respectivement comme des dérivés de la progestérone et de la testostérone, tandis que la structure du zéranol est complètement différente.

28. En quoi les hormones naturellement présentes chez les animaux, dans la viande ou chez l'homme diffèrent-elles des résidus des trois hormones naturelles utilisées à des fins anabolisantes présents dans la viande?

M. Boisseau

246. La définition des résidus désigne aussi bien la substance d'origine que l'ensemble des métabolites qui en sont issus. Par conséquent, pour ce qui concerne la partie des résidus d'hormones naturelles qui est composée de substances d'origine, il n'y a aucune différence entre les hormones présentes naturellement chez les animaux de boucherie, dans la viande ou chez l'homme. Les métabolites de ces hormones naturelles présentes chez les animaux et dans la viande sont évidemment les mêmes. À ma connaissance, aucune preuve scientifique n'indique que les principaux métabolites des trois hormones naturelles existant chez les bovins et chez l'homme ne sont pas semblables.

M. De Brabander

247. À première vue, il n'existe aucune différence entre les résidus des trois hormones naturelles utilisées à des fins anabolisantes présents dans la viande, et les hormones naturellement présentes chez les animaux, dans la viande et chez l'homme. Toutefois ...

- l'utilisation des trois hormones naturelles à des fins anabolisantes déclenche dans l'organisme animal et humain un mécanisme de réaction susceptible d'aboutir à l'apparition d'autres substances qui **ne sont pas** naturellement présentes. La

conversion de la testostérone en boldénone en est une illustration. La boldénone est une hormone très puissante utilisée par les culturistes;

- les hormones "naturelles" utilisées à des fins anabolisantes sont synthétisées (élaborées) à partir de matériel végétal. Le rapport C_{13}/C_{12} des végétaux est différent du rapport C_{13}/C_{12} des animaux. Des recherches en cours démontrent que l'application d'hormones dites "naturelles" à des fins anabolisantes modifie la combinaison hormonale (voir la question n° 32, ci-dessous);
- les résidus des hormones naturelles chez les bovins prennent la forme 17α (forme inactive) tandis que l'utilisation des hormones anabolisantes dites "naturelles" peut conduire à des résidus ayant la forme β (forme active);
- les résidus (des esters) des hormones naturelles s'accumulent dans le poil des animaux.

29. Dans quelle mesure les données figurant dans l'évaluation des risques liés aux résidus des trois hormones de synthèse trouvées dans la viande, dont font état les Avis du CSMVSP, correspondent-elles aux concentrations réelles de ces résidus? Des références spécifiques sont-elles fournies concernant la manière dont les données relatives aux résidus sont liées à l'application ou à la non-application des bonnes pratiques vétérinaires? Comment ces concentrations se situent-elles par rapport aux LMR fixées par le Codex? [voir les paragraphes 165 à 176 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les pages 55 à 68 de l'Avis du CSMVSP du 30 avril 1999 dans la pièce US-4, le paragraphe 144 de la première communication des États-Unis, les pièces US-6 et 7, la note de bas de page 46 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation]

M. Boisseau

248. Les concentrations de résidus sont prises en considération à la troisième étape (évaluation de l'exposition) de la procédure d'évaluation des risques, après l'établissement d'une DJA à la fin de la deuxième étape (caractérisation des dangers) de cette procédure. Dès lors que, dans son rapport de 1999, le CSMVSP concluait qu'"aucune valeur seuil et, par conséquent, aucune DJA ne peuvent être établies pour les six hormones" (y compris pour les trois hormones de synthèse), il ne lui était pas nécessaire de réaliser une évaluation quantitative de l'exposition des consommateurs aux résidus des activateurs de croissance hormonaux, et notamment de déterminer les concentrations de résidus présentes dans les aliments provenant d'animaux traités et l'incidence de la non-observation des bonnes pratiques vétérinaires sur ces concentrations, ni de comparer ces concentrations avec les LMR définies par le Codex.

M. De Brabander

249. Dans le cas des trois hormones de synthèse, l'évaluation du risque réalisée par le CSMVSP, qui porte sur des concentrations réelles de résidus, est moins complexe que dans le cas des hormones naturelles. En effet, étant donné que ces hormones ne sont pas produites naturellement, les niveaux endogènes chez l'homme et dans l'environnement doivent être considérés comme nuls.

250. Chaque administration de ces trois hormones augmente la concentration de la substance chez l'homme, donnant lieu à un certain nombre d'effets mentionnés par le CSMVSP et suscitant des doutes concernant de nombreux effets encore inconnus. De plus, certaines données "anciennes" relatives aux concentrations de résidus sont utilisées dans l'évaluation des risques.

251. D'après mon expérience personnelle, il faut être extrêmement prudent en ce qui concerne les publications de concentrations de résidus. Les concentrations mentionnées (par exemple au tableau 8 – Concentrations de résidus de trenbolone alpha et bêta dans les tissus de bétail traité, page 56, pièce US-4) sont extrêmement faibles (par exemple, 10 ng/kg (= 10 ppt)), et l'on peut avoir des doutes sérieux quant à leur précision. Au moment où elles ont été publiées (1987), on ne disposait d'aucune méthode analytique permettant de quantifier adéquatement ces résidus à un tel niveau de concentration (méthodes GC-MS/MS ou LC-MS/MS). La capacité de détection et le mode de validation de la méthode analytique ont beaucoup changé au cours des 20 dernières années. Il est possible que les concentrations soient gravement sous-estimées, ce qui rendrait l'évaluation des risques encore plus risquée.

252. De plus, toutes les études attachent une importance exagérée aux **seuls** effets directs sur la santé des personnes (DSEO, DJA, LMR). Comme cela a été démontré dans plusieurs documents, une partie importante des hormones utilisées est excrétée via les fèces (près de 75 pour cent pour l'acétate de mélangestrol) à partir desquelles elles se répandent dans l'environnement et provoquent de nombreux effets incontrôlables. Dans le cas des trois hormones de synthèse, les données concernant leurs métabolites, les éventuels produits de transition et les effets sur l'abondante vie aquatique qui nous entoure sont insuffisantes.

253. Les LMR fixées par le Codex sont élevées par rapport aux limites définies par les méthodes analytiques modernes (normalement ≤ 1 µg/kg).

Trenbolone et zéranol	Bovins - Muscle	2 µg/kg
	Bovins - Foie	10 µg/kg
Acétate de mélangestrol	Bovins - Foie	5 µg/kg
	Bovins - Graisse	8 µg/kg

254. Compte tenu de leur relation avec la santé des personnes sous tous ses aspects, et également d'un point de vue analytique, ces LMR ne sont pas acceptables.

30. Dans quelle mesure les données figurant dans l'évaluation des risques liés aux résidus des trois hormones naturelles trouvées dans la viande, dont font état les Avis du CSMVSP, correspondent-elles aux concentrations réelles de ces résidus? Est-il possible de comparer ces concentrations aux DJA recommandées par le JECFA en 1999? Des références spécifiques sont-elles fournies concernant la manière dont les données relatives aux résidus sont liées à l'application ou à la non-application des bonnes pratiques vétérinaires? [voir les paragraphes 120 à 123 et 155 à 164 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les pages 33 à 54 de l'Avis de 1999 dans la pièce US-4, le paragraphe 144 de la première communication des États-Unis et le 52^{ème} rapport du JECFA dans la pièce US-5]

M. Boisseau

255. Ma réponse à la question n° 29 s'applique également à la présente question.

M. Boobis

Évaluation de l'exposition dans les Avis du CSMVSP

256. Le Comité scientifique des mesures vétérinaires en rapport avec la santé publique n'a pas évalué lui-même les données mentionnées dans ses Avis de 1999 et de 2002 concernant les

concentrations de résidus des trois hormones naturelles dans la viande, lors de l'évaluation des risques liés à ces résidus. Dans son Avis de 1999, le Comité cite des données classées par le JECFA, mais calcule ensuite une exposition basée sur les tolérances américaines, ce qui aboutit à des estimations d'exposition supérieures aux apports maximaux journaliers théoriques (AJMT) calculés sur la base des concentrations de résidus obtenues par le JECFA, en 1999. Il existe dans cet avis une certaine confusion entre les DJA et les tolérances (qui sont équivalentes aux LMR). Les tolérances sont fixées pour permettre de déterminer la mise en conformité. Toutefois, l'exposition aux valeurs tolérables ne peut pas être assimilée à un risque pour la santé. C'est la DJA qui détermine si une exposition donnée présente un risque sanitaire. Dans l'Avis de 2002, le Comité ne revient pas sur l'exposition résultant d'un usage conforme aux bonnes pratiques vétérinaires. En revanche, il examine l'exposition éventuelle découlant de plusieurs cas d'usage inapproprié. Cette analyse est fondée sur une série d'études expérimentales visant à déterminer les conséquences d'un certain nombre de mauvais usages précis sur les concentrations d'hormones dans la viande. Toutefois, bien que ces données puissent être utiles dans une évaluation des risques, leur intérêt est limité du fait de l'absence de tout renseignement concernant la fréquence de ce type de mauvais usage des produits en question dans une pratique vétérinaire normale. Il aurait été possible de comparer les estimations d'exposition du CSMVSP aux DJA calculées par le JECFA, mais cela n'a pas été fait. Les DJA auraient été supérieures aux estimations d'exposition pour les trois hormones. Dans les deux avis, la comparaison a été faite avec la dose estimée correspondant aux tolérances américaines.

257. Des références sont fournies concernant une série d'études sur l'effet de différents cas de mauvais usage sur les concentrations de résidus. Toutefois, aucune référence n'est donnée sur les effets que l'application ou la non-application des bonnes pratiques vétérinaires peut avoir sur les concentrations de résidus dans une pratique vétérinaire normale.

CSMVSP (2002). Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health: Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out50_en.pdf)

M. De Brabander

258. Dans le cas des trois hormones naturelles, l'évaluation du risque réalisée par le CSMVSP, qui porte sur des concentrations réelles de résidus, est plus complexe que dans le cas des hormones de synthèse. Différentes données concernant les concentrations endogènes des trois hormones chez l'homme et les animaux d'élevage figurent dans la documentation.

259. L'argument souvent utilisé pour autoriser l'usage d'hormones naturelles est que la proportion des résidus de ces hormones dans la viande représente seulement une petite partie des hormones produites naturellement dans l'organisme humain (JECFA, 1987). Là aussi, certaines données "anciennes" relatives aux concentrations de résidus sont utilisées dans l'évaluation des risques et l'on peut avoir des doutes sur leur précision.

260. Comme pour les trois hormones de synthèse, toutes les études attachent une importance exagérée aux seuls effets directs sur la santé des personnes (mesurés sur la base des DSEO, DJA, LMR et autres). Comme cela a été démontré dans plusieurs études, une partie importante des hormones utilisées est excrétée via l'urine et les fèces, et l'administration d'hormones naturelles à un troupeau entraîne une augmentation de la concentration de ces hormones dans l'environnement. Il a été démontré récemment dans notre laboratoire que les asticots sont en mesure de convertir des concentrations élevées d'hormones naturelles en de puissants anabolisants, comme la boldénone et le boldione.

261. Il convient en outre de ne pas négliger le rôle de phéromones que peuvent jouer ces hormones. L'androsténone (la phéromone du ver rat) en est l'exemple le plus connu. Le jeudi 10 février 2005, les informations de la BBC ont indiqué que des essais réalisés sur un aérosol produisant une augmentation du plaisir sexuel chez les femmes avaient été couronnés de succès. L'aérosol, développé par la société australienne Acrux, contient de la testostérone, hormone sexuelle masculine. Conçu initialement à l'intention des femmes post-ménopausiques, le produit s'est également avéré actif sur des femmes jeunes ayant une faible libido. L'aérosol a été testé sur une durée de quatre mois en trois doses, sur 261 femmes ayant une pulsion sexuelle faible et un niveau réduit de testostérone.

262. Les tests effectués sur ce type d'aérosol ont illustré l'incidence des hormones sur le comportement humain. M. Geoff Hackett, de la Société britannique de médecine sexuelle, a indiqué qu'il était important d'administrer l'aérosol uniquement à des femmes ayant été soumises à une évaluation approfondie et présentant un faible niveau de testostérone. M. Hackett a également signalé qu'une augmentation exagérée du niveau de testostérone est liée à des effets parasites tels que la croissance de la barbe, la chute des cheveux, l'apparition d'acné et la peau grasseuse.

263. Outre le produit ci-dessus, il faut également mentionner le ZMA (commercialisé par un laboratoire bien connu aux États-Unis et sur Internet). Le ZMA est une formule minérale anabolisante conçue scientifiquement. Ce produit, entièrement naturel, contient de l'aspartate de monométhionine de zinc, de l'aspartate de magnésium et de la vitamine B6. Il a été prouvé cliniquement qu'il provoque une augmentation notable des concentrations d'hormones anabolisantes et de la puissance musculaire chez les athlètes entraînés. Dans les tests, le groupe ZMA a présenté une augmentation de 30 pour cent des concentrations de testostérone libre et totale, alors que le groupe placebo présentait une diminution de 10 pour cent. Le groupe ZMA a également présenté une légère *augmentation* des concentrations du facteur de croissance de type insuline (IGF-1) contre une *diminution* de 20 pour cent dans le groupe placebo.

264. Je n'ai trouvé, dans les études relatives aux concentrations de résidus d'hormones naturelles, aucune indication sur l'influence de ces formulations de ZMA (ni sur un synergisme avec les implants). Toutefois, il est bien connu que des éléments comme le zinc et le magnésium jouent un rôle important dans les réactions enzymatiques.

31. **Veillez faire des commentaires sur la déclaration des États-Unis selon laquelle "les concentrations d'œstradiol-17β dans la viande des bovins traités ne varient pas de façon significative par rapport aux concentrations chez les bovins non traités, c'est-à-dire que les concentrations de résidus dans la viande des bovins traités aux hormones sont largement comprises dans la plage physiologique des concentrations de résidus des bovins non traités. Bien que les concentrations d'œstradiol-17β dans les tissus des bovins traités puissent être légèrement supérieures à celles des bovins non traités, cette différence est très inférieure aux importantes variations observées chez les femelles (reproductrices) en cours de cycle et en gestation, et les concentrations se situent donc amplement dans les limites des valeurs observées naturellement." Dans votre réponse, veuillez tenir compte du 11^{ème} rapport des États-Unis sur la cancérogenèse, où il est déclaré que "la viande et le lait peuvent contenir des œstrogènes. L'usage vétérinaire des œstrogènes stéroïdiens (pour stimuler la croissance et traiter les maladies) peut faire passer le taux d'œstrogènes dans les tissus des animaux de boucherie à un niveau excédant les niveaux normaux", et la déclaration des Communautés européennes selon laquelle "la consommation de viande de génisse gestante est exceptionnelle, car ces animaux ne sont généralement pas abattus". [voir les paragraphes 51 et 144 de la première communication des États-Unis et les pièces US-6 et 7, le paragraphe 98 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, la pièce EC-101, et le paragraphe 2.3.2.3 de l'Avis de 1999 du CSMVSP]**

M. Boisseau

265. La déclaration des États-Unis selon laquelle "les concentrations ... valeurs observées naturellement" est certainement exacte si l'on estime que les concentrations d'œstradiol-17 β et de progestérone qui se produisent pendant la gestation sont comprises dans la plage physiologique de ces hormones chez les bovins. Il est également vrai que la viande et le lait des bovins non traités contiennent des résidus de ces deux hormones naturelles. L'observation des Communautés européennes selon laquelle "la consommation de viande de génisse en gestation est exceptionnelle, car ces animaux ne sont généralement pas abattus" est également vraie. Même si, conformément à l'essentiel de l'observation des CE, il est possible de limiter les concentrations physiologiques d'œstradiol-17 β et de progestérone chez les bovins, il faut néanmoins admettre que 1) les consommateurs sont exposés à ces deux hormones naturelles du fait qu'ils consomment de la viande et du lait provenant d'animaux de boucherie et principalement, au moins en ce qui concerne les femmes, du fait de leur production endogène, 2) cette exposition ne peut pas être évitée. Par conséquent, l'utilisation du concept de seuil dans l'évaluation des risques liés aux résidus d'hormones naturelles est légitime et l'apport supplémentaire de résidus de ces hormones naturelles par la viande d'animaux traités doit être examiné dans ce contexte et non pas conformément à une affirmation théorique soutenant qu'"aucun apport additionnel de résidus n'est acceptable".

M. De Brabander

266. La déclaration des États-Unis selon laquelle "les concentrations d'œstradiol-17 β dans la viande des bovins traités ne varient pas de façon significative par rapport aux concentrations chez les bovins non traités, c'est-à-dire que les concentrations de résidus dans la viande des bovins traités aux hormones sont largement comprises dans la plage physiologique des concentrations de résidus chez les bovins non traités" peut sembler exacte à première vue. Toutefois, les femelles gestantes ne sont normalement pas abattues et même si un cas se présente, la consommation de viande provenant de ces animaux est infime. Au contraire, si tous les animaux sont traités à l'œstradiol-17 β , il risque de se produire une augmentation significative d'œstradiol dans l'alimentation humaine. La viande et le lait sont susceptibles de contenir des œstrogènes (d'autres denrées alimentaires peuvent également en contenir sans que cela pose de problème si le niveau de consommation alimentaire reste normal) et il est donc inutile d'en ajouter par des moyens artificiels.

267. De plus, l'usage des hormones n'est pas seulement contesté du point de vue du risque alimentaire:

- il faut tenir compte également de l'incidence sur le bien-être des animaux, qui constitue un aspect important. Un grand nombre de publications indiquent que l'usage des hormones a un effet sur le comportement des animaux (et de l'homme). Les animaux traités aux hormones peuvent devenir plus agressifs ou éprouver des sensations pénibles. Cela n'est pas toléré actuellement;
- il faut tenir compte de l'incidence sur l'environnement. Toutes les hormones naturelles, aussi bien que les hormones de synthèse, aboutissent à l'environnement. Une quantité exagérée d'hormones peut influencer la vie et le comportement de certains poissons et invertébrés, et modifier le déroulement normal de la vie. De nombreuses recherches sont en cours dans ce domaine;
- enfin, la majorité des consommateurs européens ne souhaitent pas que la viande qu'ils consomment provienne d'animaux traités aux hormones (et souhaitent également que l'usage de médicaments vétérinaires soit le plus réduit possible). Cette tendance de la consommation s'est affirmée au fil des ans et a été reprise par les chaînes de distribution qui décident en fin de compte des produits qui sont mis sur le marché.

32. **Veillez faire des commentaires sur les conclusions de l'évaluation des risques effectuée par les CE (Avis du CSMVSP d'avril 2002) selon lesquelles des méthodes ultrasensibles permettant de détecter des résidus d'hormones dans les tissus animaux sont à présent disponibles mais demandent une validation supplémentaire. Quelle est la portée de cette affirmation pour ce qui regarde la possibilité d'établir si les hormones naturelles présentes dans la viande proviennent de la production endogène ou s'il s'agit de résidus d'hormones utilisées à des fins anabolisantes?**

M. Boisseau

268. Il est systématiquement exigé de toute méthode d'analyse, employée, entre autres choses, pour détecter des résidus, qu'elle ait été validée avant l'utilisation. Cette validation doit être menée conformément à des critères bien définis et acceptés à l'échelle internationale. Dans la mesure où ces méthodes ultrasensibles auxquelles font allusion les Communautés européennes ne sont pas encore adéquatement validées, des efforts restent à fournir dans ce domaine. Il faut rappeler néanmoins qu'une fois que des LMR ont été fixées pour une substance donnée, il n'est plus nécessaire de disposer de méthodes d'analyse extrêmement sensibles, mais d'une méthode validée dont la sensibilité doit être compatible avec les valeurs des LMR établies. En outre, s'il est vrai que les méthodes d'analyse ultrasensibles demeurent utiles pour contrôler l'usage de médicaments vétérinaires interdits comme les activateurs de croissance dans l'Union européenne, elles le sont moins dans le cas des trois hormones naturelles, qui sont produites de façon endogène par les animaux de boucherie.

M. De Brabander

269. Les méthodes de détermination des hormones s'améliorent constamment et il est prévisible que cette tendance se poursuivra pendant un certain temps. Au début de ma carrière de chimiste, à la faculté de médecine vétérinaire (1973), la méthode de choix était la chromatographie sur couche mince (TLC) avec détection de fluorescence. Cette méthode a été utilisée (avec succès) pendant un certain temps jusqu'à l'apparition du couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse (GC-MS même remarque, c'est le sigle anglais qui est utilisé systématiquement dans la documentation française) (mis en pratique à la fin des années 80). Postérieurement, des spectres MS-MS et même MSⁿ ont pu être utilisés en tant que méthodes de détection très sélectives. Au milieu des années 90, des systèmes abordables couplant la chromatographie en phase liquide et la spectrométrie de masse (LC-MS) sont arrivés sur le marché.

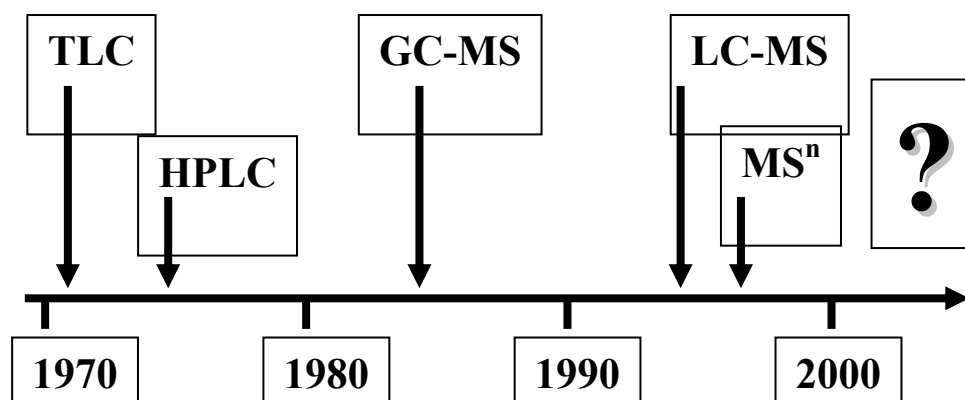


Figure 32.1: Évolution de la disponibilité des techniques d'analyse dans le temps

270. Le couplage LC-MS est encore en pleine évolution. Cette tendance est illustrée dans la figure 32.2 qui présente l'évolution des limites de détection des méthodes GC et LC-MS. On observe la diminution considérable des limites de détection au cours des dernières années.

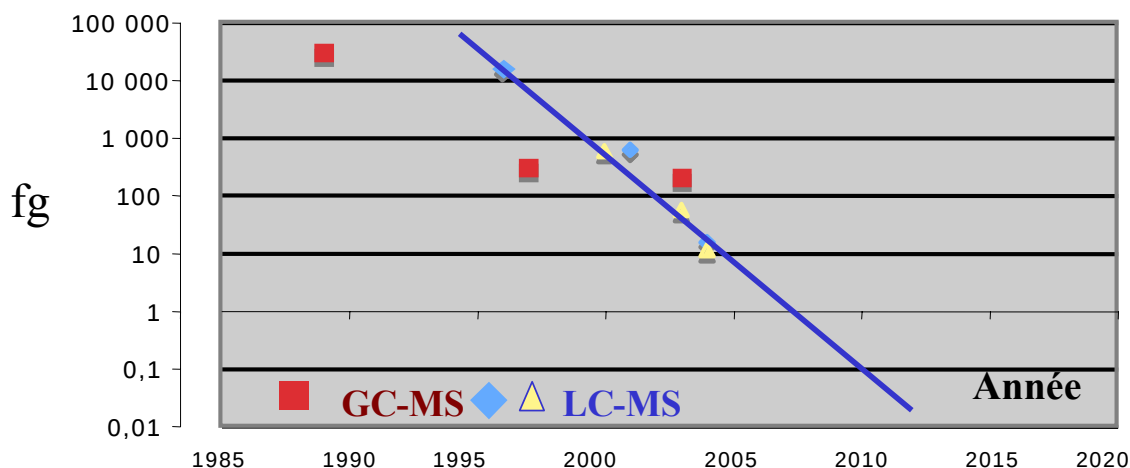


Figure 32.2: Évolution des limites de détection dans le temps

271. L'amélioration des limites de détection par LC est plus prononcée que par GC-MS et se poursuivra avec l'introduction de nouvelles méthodes de séparation et de détection. Par ailleurs, la chromatographie en phase gazeuse et le couplage chromatographie en phase liquide – spectrométrie de masse devraient être utilisés de façon complémentaire. Un exemple illustre cette remarque: le principal métabolite du stanozolol (un stéroïde anabolisant de synthèse) chez les bovins est le 16-hydroxystanozolol. Il n'a été possible d'observer cette substance qu'en analysant les échantillons par LC-MS après l'analyse par GC-MS. De fait, la structure du 16-hydroxystanozolol rend extrêmement difficile, voire impossible, sa détection par GC-MS.

Multi-laboratory study of the analysis and kinetics of stanozolol and metabolites in treated calves. H.F. De Brabander, K. De Wasch, L.A. van Ginkel, S.S. Sterk, M.H. Blokland, Ph. Delahaut, X. Taillieu, M. Dubois, C.J.M. Arts, M.J. van Baak, L. G. Gramberg, R. Schilt, E.O. van Bennekom, D. Courtheyn, J. Vercammen, R.F. Witkamp The Analyst, 123, 12 (1998) 2599-2604.

272. En conséquence, toutes les données concernant le métabolisme du stanozolol obtenues avant l'utilisation de la méthode LC-MS (1998) ont peu d'intérêt dès lors que le principal métabolite n'avait pas été détecté. Il existe de nombreux cas analogues pour lesquels les données d'analyses "anciennes" devraient être utilisées avec prudence. Il faut ajouter que lorsque des appareils permettant d'obtenir une meilleure séparation et/ou des limites de détection plus faibles deviennent disponibles, il n'est pas toujours possible de réaliser de nouveau des expériences coûteuses sur les animaux pour mettre les données à jour.

273. Il existe à ce sujet, entre l'Europe et les États-Unis, une différence importante, clairement mesurable si l'on considère la documentation citée. Étant donné qu'un nombre réduit de chercheurs travaillent, aux États-Unis, sur la détermination de résidus de substances interdites (car elles n'y sont pas interdites), les publications sur ces thèmes (la conception de méthodes) ne sont pas souvent citées aux États-Unis, ce dont témoigne l'index des citations.

274. Cette question concerne également l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de rapport isotopique (GC-C-IRMS). Comme je l'ai indiqué dans ma réponse à la question n° 28, les hormones dites "naturelles" utilisées à des fins anabolisantes sont synthétisées (élaborées) à partir de matériel végétal. Le rapport C_{13}/C_{12} des végétaux est différent du rapport C_{13}/C_{12} des animaux. Il existe à présent des données récentes démontrant que l'application d'hormones "naturelles" à des fins anabolisantes modifie la combinaison hormonale.

275. Les méthodes évoluent encore fortement, aussi bien dans les laboratoires de contrôle antidopage que pour les analyses de résidus. Dans la pratique, les nouvelles méthodes et les nouveaux instruments demandent un certain temps pour que certains aspects techniques puissent être mis au point et la robustesse du matériel améliorée. La validation des méthodes exige donc un temps considérable.

33. Pourquoi les trois hormones naturelles ont-elles été réévaluées par le JECFA en 1999? Les données relatives aux résidus des trois hormones naturelles utilisées en 1999 sont-elles les mêmes que celles qui avaient été utilisées en 1988? Quels sont les renseignements additionnels utilisés pour l'évaluation des trois hormones naturelles effectuée par le JECFA en 1999 qui n'étaient pas disponibles en 1988? En quoi les conclusions ont-elles été différentes? Quel est le motif qui a conduit le JECFA à établir des DJA pour les trois hormones naturelles? Quelles sont les répercussions de l'établissement d'une DJA? Pourquoi le Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments n'a-t-il pas tenu compte des recommandations les plus récentes du JECFA? Qu'en est-il de ces recommandations? [voir les paragraphes 96 et 97 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis) et les paragraphes 79 et 80 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada)]

M. Boisseau

276. Comme cela a déjà été mentionné dans ma réponse à la question n° 29, il est inutile d'établir des LMR en l'absence de DJA. Dans la mesure où le JECFA a conclu, à sa session de 1988, qu'étant donné le résultat de son évaluation des risques liés aux trois hormones naturelles il n'était pas nécessaire d'établir de DJA pour protéger la santé des personnes, il était inutile d'établir des LMR (voir la réponse donnée à la question n° 18 qui s'applique également à la présente question n° 33). Pour les raisons expliquées dans ma réponse à la question n° 18, le JECFA a décidé en 1999 d'établir des DJA pour ces trois hormones naturelles. Habituellement, l'établissement de DJA conduit à fixer des LMR. Dans le cas de ces trois hormones naturelles, le résultat de l'évaluation de l'exposition des consommateurs effectuée par le JECFA en 1999 a démontré, comme cela a été indiqué dans ma réponse à la question n° 18, que l'apport maximal estimé de résidus était si faible par rapport aux valeurs des DJA correspondantes qu'il n'était pas nécessaire d'établir des LMR pour protéger la santé des personnes.

277. Les données relatives aux résidus prises en compte en 1999 pour évaluer l'exposition sont celles qui avaient déjà été utilisées lors de la 32^{ème} session du JECFA.

278. Bien que les termes des conclusions adoptées par le JECFA aient été différents dans la forme, le fond de ces conclusions est resté identique.

279. L'établissement de ces DJA n'a eu aucune répercussion particulière dans la mesure où aucune LMR n'a été fixée.

280. Ces nouvelles recommandations n'ont pas été prises en compte par le CCRVDF parce que celui-ci n'avait pas demandé au JECFA de réévaluer ces hormones et parce que les nouvelles propositions du JECFA n'ont pas modifié le fond des précédentes.

M. Boobis

Raisons de la réévaluation des hormones naturelles effectuée par le JECFA

281. Les hormones ont été réévaluées par la 52^{ème} session du JECFA, sur le conseil du Secrétariat de cet organisme et en raison de la publication de nouveaux renseignements dans la documentation parue postérieurement à l'évaluation précédente (*FAO, 2000*). Cette suggestion a été appuyée par la onzième session du CCRVDF du Codex à l'occasion de la révision de la liste des substances à réévaluer en priorité (*CCRVDF, 1998*).

CCRVDF (1998). Rapport de la onzième session du Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, 15-18 septembre 1998, Washington, D.C.: Alinorm 99/31 (<http://www.fao.org/docrep/meeting/005/X0203E/x0203e00.htm#Contents>)

282. Je ne suis pas en mesure de faire des commentaires sur le fait que les données relatives aux résidus aient été ou non les mêmes que celles qui avaient été évaluées en 1988.

283. Un certain nombre d'études additionnelles ont été publiées concernant l'évaluation toxicologique et les effets sur l'homme des expositions thérapeutiques aux hormones (sous forme de contraceptifs oraux ou de traitements hormonaux substitutifs, par exemple). Ces études n'étaient pas disponibles en 1988.

284. La conclusion de la session de 1999 du JECFA a consisté à établir des DJA pour les hormones évaluées, alors qu'en 1988 il n'avait pas été jugé utile d'attribuer de DJA, ni même d'élaborer des monographies toxicologiques sur les hormones. Cela est vraisemblablement dû au fait qu'à cette époque, il n'était pas jugé nécessaire de mener une évaluation toxicologique détaillée de substances produites de façon endogène. Toutefois, pendant le temps écoulé entre la première et la deuxième évaluation, il est devenu clair que l'exposition aux hormones naturelles, bien qu'à des concentrations notablement supérieures à celles qui se trouvent dans la viande des bovins traités, peut avoir des effets néfastes sur l'homme. Il en a été conclu implicitement qu'il était nécessaire d'établir des DJA qui pourraient servir de valeurs guides fondées sur des critères sanitaires. Ces DJA pourraient ensuite servir de repères pour la comparaison avec l'exposition provenant du régime alimentaire. De l'avis du JECFA, une exposition journalière à des concentrations inférieures ou égales à la DJA pendant toute la durée de la vie ne présenterait pas de risque appréciable (définition de la DJA donnée par le PISC; définition aussi de la DJA de résidus de médicaments vétérinaires donnée par le Comité des médicaments à usage vétérinaire (EMA 2005)).

285. "Dose journalière admissible (DJA): estimation du résidu, exprimé en microgrammes ou en milligrammes par kilogramme de poids corporel, qui peut être ingéré quotidiennement tout au long de la vie sans risque sanitaire appréciable."

EMA (2005). Volume 8: Notice to applicants and Guidance: Veterinary medicinal products. Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin (http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-8/pdf/vol8_10-2005_.pdf)

286. Les données utilisées pour établir les DJA de l'œstradiol et de la progestérone en 1999 provenaient d'études sur l'homme réalisées après 1988.

287. Selon le rapport du CCRVDF, ces recommandations n'ont pas été prises en compte parce que la révision n'avait pas été demandée et que le Comité n'a trouvé aucun fondement à une modification de sa précédente décision selon laquelle il n'était pas nécessaire de préciser des LMR pour les hormones naturelles.

"Estimant que le Comité n'avait pas demandé la réévaluation de ces substances et que les nouvelles LMR recommandées par le JECFA, à sa 52^{ème} session, ne diffèrent guère des LMR en vigueur, le Comité a décidé de ne pas examiner ces nouvelles recommandations." (CCRVDF, 2000)

*CCRVDF (2000). Rapport de la douzième session du CCRVDF (ALINORM 01/31)
Washington, D.C., 28-31 mars 2000
(http://www.codexalimentarius.net/download/report/217/Al01_31e.pdf)*

288. Le JECFA établit des DJA mais recommande les LMR. Le CCRVDF a adhéré à la recommandation selon laquelle il n'était pas nécessaire de spécifier des LMR pour les hormones naturelles.

289. En conséquence de cette décision, la situation actuelle des LMR du Codex correspondant aux trois hormones naturelles est que ces substances sont répertoriées comme étant "non nécessaires" en ce qui concerne les tissus provenant des bovins (l'espèce sur laquelle ces hormones sont utilisées).

M. De Brabander

290. L'incertitude plane, à mon avis, sur la force motrice qui a poussé le JECFA à réévaluer les trois hormones naturelles. La pensée scientifique a évidemment évolué, puisque le JECFA, qui jugeait "inutile" d'établir des DJA et des LMR pour les trois hormones naturelles en 1988, a changé d'opinion en 1999.

291. À ma connaissance, les données relatives aux résidus utilisées par le JECFA en 1999 étaient les mêmes que celles de 1988. Ces données ont été générées par des dosages radio-immunologiques qui, selon la Décision 2002/657/CE sont autorisés uniquement en tant que méthodes de dépistage et il est permis d'avoir des doutes sur la procédure de validation des méthodes. Les renseignements additionnels auraient dû provenir de tests sur des animaux de laboratoire et des êtres humains. Toutefois, le rapport de la 52^{ème} session du JECFA ne renvoie à aucune documentation non classifiée.

292. Les conclusions sont différentes en ce sens que des DJA ont été établies, ce qui constitue une reconnaissance du danger que présentent les hormones pour la santé et le bien-être des personnes.

293. En ce qui concerne les dernières questions (Pourquoi le Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments n'a-t-il pas tenu compte des recommandations plus récentes du JECFA? Qu'en est-il de ces recommandations?), il est hors de mon pouvoir d'y répondre.

34. Veuillez faire des commentaires sur l'argument des CE selon lequel les conclusions du rapport de 1999 du JECFA sont fondées a) sur des données caduques concernant les résidus, et b) non sur des preuves provenant de résidus présents dans la viande mais sur des études réalisées avec des animaux de laboratoire et sur des études générales du CIRC. Si les données n'étaient pas récentes, le JECFA a-t-il tenu compte de ce fait dans son évaluation? Quelles sont les répercussions de l'utilisation de ce type de données aux fins de la mise en œuvre d'une évaluation des risques? Quelle est la fiabilité de l'extrapolation des résultats d'études sur animaux à d'éventuels effets indésirables sur l'homme? Cela est-il comparable avec le type de données et d'études utilisées en ce qui concerne d'autres médicaments vétérinaires? [voir le paragraphe 120 de la

**communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis)
et le paragraphe 102 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire
concernant le Canada)]**

M. Boisseau

294. Comme je l'ai mentionné dans ma réponse à la question n° 33, il est vrai que 1) les données relatives aux résidus prises en compte par le JECFA en 1999 pour évaluer l'exposition étaient celles qui avaient déjà été utilisées lors de la 32^{ème} session, en 1987, 2) certaines de ces données n'ont pas été publiées dans des revues scientifiques examinées par des pairs. C'est un truisme d'affirmer que des données récentes sont fournies au JECFA lorsqu'il lui est demandé d'évaluer des médicaments vétérinaires mis sur le marché récemment, et que ces données sont plus anciennes lorsqu'il s'agit de médicaments vétérinaires commercialisés depuis longtemps. Quoi qu'il en soit, la qualité et la quantité des données disponibles sont plus importantes que la date à laquelle elles ont été produites. Pour réaliser l'évaluation de l'exposition aux résidus et établir les LMR adéquates pour les substances en cours de réexamen, le JECFA doit examiner les données disponibles concernant les résidus. S'il estime que la qualité et le nombre de ces données, ainsi que la validation des méthodes d'analyse utilisées pour les obtenir, sont satisfaisantes, le JECFA évalue l'exposition et établit des LMR. S'il estime que ces conditions ne sont pas remplies, le JECFA n'établit pas de LMR et demande des données supplémentaires. Dans le cas des hormones, le JECFA a considéré que la qualité et le nombre des données disponibles relatives aux résidus étaient satisfaisants et donc que l'ancienneté des données n'avait pas d'incidence spécifique sur l'évaluation. Par ailleurs, la marge de sécurité considérable existant entre l'exposition des consommateurs aux résidus d'hormones et la valeur des DJA fixées n'a pas soulevé de problème grave dans ce cas (voir ma réponse à la question n° 18).

295. Je ne comprends pas vraiment la signification de la deuxième remarque des CE selon laquelle "les résultats toxicologiques figurant dans le rapport de 1999 du JECFA ... ne sont pas fondés sur des preuves concernant des résidus présents dans la viande des animaux traités avec ces hormones à des fins anabolisantes". Comme je l'ai déjà mentionné dans ma réponse à la question n° 13, les études toxicologiques sont toujours effectuées à l'aide de quantités de substances supérieures à celles qui correspondent aux résidus, et on suppose que les résidus ont le même potentiel toxicologique que les substances testées. Lorsqu'il existe, parmi ces résidus, un métabolite associé à un potentiel toxicologique spécifique suscitant des préoccupations en termes de santé publique, le JECFA peut fonder son évaluation des risques sur ce métabolite si cela est approprié et techniquement possible. En outre, il est normal, pour évaluer le potentiel toxicologique d'une substance, de prendre en considération des études *in vivo* sur des animaux de laboratoire, des études *in vitro*, ainsi que des rapports déjà publiés par des organismes scientifiques de réputation internationale comme le CIRC.

296. L'extrapolation des animaux à l'homme en ce qui concerne le potentiel toxicologique des substances à l'examen est inévitable dès lors qu'il n'est pas possible d'effectuer des expériences sur les êtres humains. Il incombe au JECFA d'évaluer dans quelle mesure cette extrapolation a un sens pour les produits à l'examen.

297. Pour évaluer les activateurs de croissance, le JECFA a utilisé la même procédure que pour tous les autres médicaments vétérinaires.

M. De Brabander

298. Je pense que l'argument des CE selon lequel le rapport du JECFA est fondé sur des données caduques est exact. Je n'ai pas pu trouver, dans les sources scientifiques publiées, beaucoup de données récentes concernant les résidus. En outre, les laboratoires qui sont en mesure de produire ce type de données et de les publier sont rares. Étant donné que les hormones sont interdites en Europe et que les expériences sur les animaux d'élevage sont rendues de plus en plus compliquées par toutes

sortes de règlements, la fréquence de ces expériences diminue progressivement depuis les années 80. Aux États-Unis, les données récentes sur l'analyse des résidus sont encore plus rares. Seuls quelques chercheurs américains participent aux principales conférences sur les résidus qui ont lieu régulièrement en Europe.

299. Je n'ai vu aucune incidence d'études du CIRC dans le rapport du JECFA. De telles études sont pourtant disponibles: ainsi, sur le site Web du CIRC, figure un communiqué de presse récent (communiqué n° 167 du 29 juillet 2005) indiquant que *le programme des monographies du CIRC classe les contraceptifs œstroprogestatifs et l'hormonothérapie ménopausique comme cancérrogènes pour l'homme*. Ce communiqué illustre le danger des hormones et également la problématique du synergisme: peu d'études mettent en jeu des associations d'hormones utilisées en tant qu'aides à la production (par exemple l'association d'œstradiol et de progestérone).

300. On trouvera ci-dessous une citation du communiqué de presse du CIRC:

"Le risque de cancer du sein et de cancer de l'endomètre est accru. Les études épidémiologiques montrent de façon concordante l'accroissement du risque de cancer du sein chez les femmes utilisant une hormonothérapie ménopausique. Essentiellement limité aux utilisatrices actuelles ou récentes, ce risque augmente avec la durée d'utilisation et est supérieur à celui que courent les femmes utilisant une hormonothérapie ménopausique basée sur les œstrogènes seuls. Le risque de cancer de l'endomètre dépend du nombre de jours où des progestatifs sont inclus dans la thérapie combinée. Lorsque les progestatifs sont pris moins de dix jours par mois, le risque de cancer de l'endomètre est accru, mais lorsqu'ils sont pris tous les jours, le risque est semblable à celui des femmes qui n'ont jamais utilisé de thérapie hormonale. Le groupe ne disposait pas d'indications suffisantes permettant de conclure que l'hormonothérapie ménopausique avait un effet protecteur pour une localisation particulière de cancer.

Les risques et les bénéfices globaux doivent être soigneusement pesés. Des effets bénéfiques et des effets secondaires néfastes autres que le cancer ont été établis pour l'hormonothérapie ménopausique combinée œstroprogestative. Comme pour les contraceptifs oraux, une analyse rigoureuse des risques par rapport aux bénéfices serait utile pour mettre ces différents effets en perspective et évaluer les conséquences globales en termes de santé publique."

301. Du fait de la non-utilisation de ces données (récentes), les résultats de l'évaluation des risques sont faussés et favorisent une "tolérance" vis-à-vis des hormones. Il demeure difficile de donner une réponse sur la fiabilité de l'extrapolation des résultats d'études sur animaux à d'éventuels effets indésirables sur l'homme. C'est pourquoi on utilise un facteur de sécurité.

302. Concernant la comparaison avec d'autres médicaments vétérinaires (LMR), on pourrait tenir le raisonnement suivant: les médicaments vétérinaires (et humains) ne sont pas appliqués sur chaque animal (à la différence des hormones qui servent d'aide à la production) mais uniquement en cas de besoin (maladie). Les situations sont totalement différentes.

35. Veuillez faire des commentaires sur l'allégation des Communautés européennes selon laquelle presque toutes les études mentionnées dans le rapport de 2000 du JECFA sur le MGA datent des années 60 et 70. Cela est-il exact? Les rapports suivants du JECFA, antérieurs ou postérieurs à l'adoption de la directive, reposent-ils également sur ces études? [voir le paragraphe 171 de la communication présentée par les CE à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), le paragraphe 161 de la communication présentée par les CE à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), le

paragraphe 55, y compris la note de bas de page 60, de la première communication des États-Unis et les pièces CDA-20, 33, 34 et 35]

M. Boisseau

303. Il est exact de dire que presque toutes les études mentionnées dans le rapport de 2000 du JECFA sur le MGA datent des années 60 et 70. Les commentaires qui peuvent être faits sur ce point sont similaires à ceux qui ont été faits précédemment, dans la réponse à la question n° 34. Le JECFA a pris en considération une importante série d'études toxicologiques dans son évaluation; il a utilisé comme critère d'évaluation une relation dose-effet de loin plus prudente qu'une DSEIO fondée sur un effet tumorigène, et a adopté un facteur de sécurité de 200 pour calculer une DJA à partir de cette DSEIO.

M. De Brabander

304. Je pense que l'allégation des Communautés européennes selon laquelle presque toutes les études mentionnées dans le rapport de 2000 du JECFA sur le MGA datent des années 60 et 70 est exacte. J'ai fait une recherche de documentation portant sur l'expression "acétate de mélengestrol", sur les sites Web scientifiques, et n'ai trouvé que 257 réponses. Sur ces documents, 213 ont été publiés en 1980 et ultérieurement.

305. Seules quelques-unes de ces publications font allusion à l'usage de l'acétate de mélengestrol sur les bovins en tant qu'activateur de croissance et, parmi ces publications, un petit nombre seulement provient d'auteurs américains.

Une sélection de ces ouvrages est reproduite ci-dessous:

Tepfer AJ, McFee RM, Bott RC, et al.

Feeding melengestrol acetate (MGA) to bulls during the peri or pre-pubertal period induces differences in endocrine profiles which may lead to alterations in testis size.

BIOLOGY OF REPRODUCTION: 225-225 Sp. Iss. SI 2005

Merritt DA, Wilson EM, Martin RA, et al.

Metabolism of melengestrol acetate (MGA) in the bovine: Biological activity assessment of tissue residues and implications for human food safety.

ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY 228: U102-U102 118-AGRO Part 1 AUG 22 2004

Schiffer B, Totsche KU, Jann S, et al.

Mobility of the growth promoters trenbolone and melengestrol acetate in agricultural soil: column studies

SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT 326 (1-3): 225-237 JUN 29 2004

Lange IG, Daxenberger A, Hageleit M, et al.

Non-invasive screening for treatment of heifers with the anabolic steroid melengestrol acetate (MGA) by feces analysis

JOURNAL OF IMMUNOASSAY & IMMUNOCHEMISTRY 24 (3): 265-272 AUG 2003

Schiffer B, Daxenberger A, Meyer K, et al.

The fate of trenbolone acetate and melengestrol acetate after application as growth promoters in cattle: Environmental studies

ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES 109 (11): 1145-1151 NOV 2001

Hageleit M, Daxenberger A, Meyer HHD
A sensitive enzyme immunoassay (EIA) for the determination of melengestrol acetate (MGA) in adipose and muscle tissues
FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS 18 (4): 285-291 APR 2001

Daxenberger A, Meyer K, Hageleit M, et al.
Detection of melengestrol acetate residues in plasma and edible tissues of heifers
VETERINARY QUARTERLY 21 (4): 154-158 OCT 1999

Karg H, Meyer HHD
Update evaluation of trenbolone acetate, zeranol and melengestrol acetate as growth promoters (considerations concerning the "hormone issues" between EU and USA at the WTO)
ARCHIV FUR LEBENSMITTELHYGIENE 50 (2): 28-37 MAR-APR 1999

Henricks DM, Brandt RT, Titgemeyer EC, et al.
Serum concentrations of trenbolone-17 beta and estradiol-17 beta and performance of heifers treated with trenbolone acetate, melengestrol acetate, or estradiol-17 beta
JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE 75 (10): 2627-2633 OCT 1997

CAMPBELL HM, SAUVE F
LIQUID-CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF MELENGESTROL ACETATE IN FEEDS
JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL 76 (6): 1163-1167 NOV-DEC 1993

NEIDERT EE, GEDIR RG, MILWARD LJ, et al.
DETERMINATION AND QUALITATIVE CONFIRMATION OF MELENGESTROL ACETATE RESIDUES IN BEEF FAT BY ELECTRON-CAPTURE GAS-CHROMATOGRAPHY AND GAS-CHROMATOGRAPHIC CHEMICAL IONIZATION MASS-SPECTROMETRY
JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY 38 (4): 979-981 APR 1990

CHICHILA TMP, EDLUND PO, HENION JD, et al.
DETERMINATION OF MELENGESTROL ACETATE IN BOVINE-TISSUES BY AUTOMATED COUPLED-COLUMN NORMAL-PHASE HIGH-PERFORMANCE LIQUID-CHROMATOGRAPHY
JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY-BIOMEDICAL APPLICATIONS 488 (2): 389-406 MAR 24 1989

KRZEMINSKI LF, COX BL, GOSLINE RE
FATE OF RADIOACTIVE MELENGESTROL ACETATE IN THE BOVINE
JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY 29 (2): 387-391 1981

306. Par ailleurs, les trois fichiers pdf relatifs à l'acétate de mélengestrol qu'il est possible de télécharger sur le site du "Portail international de sécurité sanitaire des aliments, et de santé animale et végétale" (<http://www.ipfsaph.org/servlet/CDSServlet?status=ND1jdGh0dHB3d3dmYW9vcmdhb3NpcGZzYXBoaW5mb3JtYXRpb25zb3VyY2VqZWNmYS5KRUNGQUVWQUxtZWxlbmdlc3Ryb2xhY2V0YXRlJyY9ZW4mMzM9Zm9ybWFsX3RleHQmMzc9aW5mbw~~>) contiennent uniquement des références "anciennes" (antérieures à 1980).

c) Relation dose-réponse

36. **Comment décririez-vous une évaluation de la relation dose-réponse? Est-il "largement, sinon universellement, admis que les effets indésirables découlant d'activités hormonales dépendent de la dose", comme le donne à entendre le Canada au paragraphe 78 de sa communication présentée à titre de réfutation? L'évaluation de la relation dose-réponse est-elle un élément nécessaire de la caractérisation des dangers? Ou bien existe-t-il une autre approche susceptible de remplacer l'évaluation de la relation dose-réponse? Une évaluation de la relation dose-réponse est-elle faisable/nécessaire pour des substances qui se révèlent génotoxiques ou qui s'avèrent posséder un potentiel génotoxique? [voir le paragraphe 153 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, le paragraphe 200 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 143, 154 et 156 de la première communication des États-Unis, les paragraphes 70 à 74 des réponses des États-Unis aux questions posées par le Groupe spécial, et le paragraphe 34 ainsi que les paragraphes 37 à 40 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, et les paragraphes 76 à 82 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]**

M. Boisseau

307. Le commentaire du Canada sur la relation dose-réponse est exact. L'évaluation de la relation dose-réponse est un élément nécessaire de la caractérisation des dangers et il n'existe, à ma connaissance, aucune autre approche susceptible de la remplacer. Une évaluation de la relation dose-réponse n'est pas réalisable pour des substances qui se révèlent génotoxiques ou qui s'avèrent posséder un potentiel génotoxique si, comme cela a été indiqué dans la réponse à la question n° 19, ces substances sont des xénobiotiques et si l'on pense que ce potentiel génotoxique peut être exprimé dans des conditions *in vivo*.

M. Boobis

308. L'évaluation de la relation dose-réponse s'entend de l'analyse de la relation qui existe entre la quantité totale d'un agent administré, pris ou absorbé par un organisme, un système ou une (sous-)population, et les modifications subies par cet organisme, ce système ou cette (sous-)population en réaction à cet agent, ainsi que des conclusions de cette analyse applicables à l'ensemble de la population (*PISC*, 2004). Dans une évaluation de la relation dose-réponse, les renseignements recherchés comprennent l'existence d'éléments prouvant qu'il se produit un effet dépendant du composé et, si tel est le cas, la gamme de doses produisant cet effet, la relation quantitative entre la dose et l'ampleur ou l'incidence de l'effet, la pente de la courbe dose-réponse, la sévérité ou l'incidence de l'effet maximum observé, l'existence d'un seuil et, si c'est le cas, son emplacement, et l'espace qui existe entre la dose sans effet indésirable observé (DSEIO) et la dose minimale ayant un effet observé (DMEIO).

309. Il est généralement admis que les effets indésirables découlant d'activités hormonales dépendent de la dose (*IUPAC*, 2003). Il faut avertir que cela est vrai lorsque la réponse met en jeu les mécanismes physiologiques de l'hormone, via l'occupation des récepteurs. Toutefois, même si cela n'était pas le cas en raison d'un mode d'action génotoxique, la réponse dépendrait de la dose. La différence se trouverait dans la forme de la courbe dose-réponse. Dans le premier cas, il existerait un seuil, une dose au-dessous de laquelle il ne se produirait aucun effet (DSEIO). Dans le deuxième cas, il n'existerait pas forcément un tel seuil. En conséquence, malgré une diminution du risque à mesure que la dose diminue, il est possible que ce risque ne soit jamais nul.

IUPAC(2003). Special Topic Issue on the Implications of Endocrine Active Substances for Humans and Wildlife, Pure Appl. Chem., Vol. 75, Nos. 11-12

310. Dans le processus d'évaluation des risques, l'évaluation de la relation dose-réponse constitue une partie essentielle de la caractérisation des dangers dès lors qu'elle forme la base du calcul des valeurs guides fondées sur des considérations sanitaires, comme la DJA, avec lesquelles l'apport alimentaire peut être comparé. L'unique exception serait une approche fondée sur le danger, c'est-à-dire donnant lieu à des recommandations relatives à la sécurité potentielle basées sur la capacité intrinsèque d'occasionner un dommage plutôt que sur la probabilité de la survenue d'un dommage. Dans le premier cas l'identification des dangers est suffisante alors que le deuxième exige une caractérisation des dangers et une évaluation de l'exposition. Le cas le plus fréquent d'orientation de la sécurité fondée sur le danger est celui qui concerne les substances génotoxiques ou potentiellement génotoxiques. Des réserves sont cependant de mise dans la mesure où toutes ces substances ne sont pas traitées de cette manière. Cela est analysé dans ma réponse à la question n° 19, ci-dessus. Il peut y avoir des raisons cinétiques (cas du phénol après exposition orale, par exemple, *Bureau européen des substances chimiques*, 2006) ou dynamiques (par exemple inhibiteurs du fuseau achromatique comme le thiophanate-méthyl, *CE*, 2005a) pour lesquelles la relation dose-réponse d'un composé génotoxique présente un seuil. De façon similaire, la courbe dose-réponse des composés qui sont génotoxiques du fait de la formation de dérivés réactifs de l'oxygène est également dotée d'un seuil (*Brusick*, 2005). De tels effets pourraient être traités de la même manière que des effets non génotoxiques, c'est-à-dire qu'une DJA pourrait être établie à partir de la dose seuil (DSEIO), après application de facteurs d'incertitude appropriés. Lorsque le mécanisme de génotoxicité n'est pas connu, on suppose que le composé réagit sur l'ADN. Toutefois, pour les composés dont l'on sait, ou l'on croit, qu'ils sont génotoxiques du fait de leur réactivité sur l'ADN, le potentiel génotoxique doit normalement être confirmé *in vivo* avant que ce critère ne soit utilisé comme base d'évaluation des risques (*CVMP*, 2004). Pour de tels composés, à moins qu'il n'existe des preuves solides du contraire, on suppose que la courbe dose-réponse ne comporte pas de seuil.

311. L'approche, à l'égard des composés dont l'on sait, ou l'on suppose, que leur courbe dose-réponse ne présente pas de seuil, varie selon les régions du globe. En Europe, et en général au sein du JECFA, une fois qu'un composé a été identifié en tant que mutagène réagissant avec l'ADN *in vivo*, ou en tant que source de réaction cancérogène suivant un mode d'action génotoxique, on considère qu'aucune exposition n'est dépourvue de risque. En conséquence, une recommandation visant à maintenir l'apport à un niveau aussi bas que raisonnablement praticable (ALARP) peut être émise, sans aucune considération de la relation dose-réponse. Dans le cas d'un résidu de médicament vétérinaire, la manière la plus simple d'obtenir le niveau ALARP serait de ne pas utiliser le médicament dans la pratique vétérinaire. Dans d'autres régions comme les États-Unis, une évaluation appropriée de la relation dose-réponse est effectuée selon une approche qui suppose une absence de seuil (fonction linéaire, extrapolation aux faibles doses). Dans cette approche, si l'apport est inférieur à celui qui est associé à un risque très faible (correspondant souvent à un taux d'incidence de 1 sur 10⁶ de population), l'exposition peut être considérée comme acceptable (*US EPA*, 2005; *US FDA*, 2005).

US FDA, Guideline No. 3, 2005. General Principles for Evaluating the Safety of Compounds Used in Food-Producing Animals (<http://www.fda.gov/cvm/Guidance/GFI003.htm>)

US EPA, 2005. Guidelines for Carcinogen Risk Assessment (http://oaspub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=439797)

M. Cogliano

312. L'évaluation de la relation dose-réponse est une caractérisation quantitative de la relation existant entre la dose d'un agent et la survenue d'effets indésirables. À mon avis, il est largement admis que les effets indésirables découlant d'activités hormonales dépendent de la dose; c'est-à-dire que l'intensité de l'effet dépend du niveau d'exposition. L'évaluation de la relation dose-réponse n'est cependant pas un élément nécessaire de la caractérisation des dangers. Sans elle, il est possible de conclure qu'un agent est susceptible de modifier le risque que se produisent un ou plusieurs effets

indésirables. Son exécution permet toutefois d'estimer, en outre, dans quelle mesure le risque peut être modifié pour un niveau d'exposition donné.

- 37. Les documents du JECFA et du Codex confirment-ils la déclaration formulée par le Canada au paragraphe 80 de sa communication présentée à titre de réfutation, selon laquelle "... bien que les techniques internationales d'évaluation des risques donnent à penser que l'évaluation de la relation dose-réponse est facultative pour les agents biologiques ou physiques lorsqu'il est impossible d'obtenir les données, une évaluation de la relation dose-réponse devrait toujours être effectuée pour les agents chimiques..."? [voir la pièce CDA-25]**

M. Boisseau

313. Le JECFA a toujours établi des DJA pour les médicaments vétérinaires sur la base d'une évaluation de la relation dose-réponse. Comme je l'ai déjà indiqué dans ma réponse à la question n° 7, le JECFA n'a pas établi de DJA lorsqu'il n'était pas possible de réaliser une évaluation de la relation dose-réponse, comme c'est le cas pour les composés xénobiotiques tels que le chloramphénicol et les nitroimidazoles.

M. Boobis

L'évaluation de la relation dose-réponse est-elle facultative?

314. La documentation du Codex et du JECFA exige clairement l'exécution systématique d'une évaluation de la relation dose-réponse dans le cadre de l'évaluation des risques liés à un agent chimique (*CAC, 2005; PISC: EHC 70, 1987 et EHC 104, 1990; PISC, 2005; OMS, 1996 et 2001*). Le JECFA ne serait pas en mesure de recommander des LMR (ou de conclure qu'il n'est pas nécessaire de les spécifier) s'il ne disposait pas de renseignements quantitatifs sur les niveaux d'exposition jugés sans danger (provenant d'observations sur l'homme et/ou d'études sur des animaux de laboratoire) et d'une estimation de l'exposition réelle à laquelle sont soumises les personnes. S'il aboutit à la conclusion qu'il n'est pas possible de définir le seuil de toxicité d'un composé parce qu'il s'agit d'un cancérigène génotoxique susceptible d'affecter la santé des personnes (supposition implicite), le JECFA peut décider qu'il est inapproprié de recommander des LMR et, dans ces circonstances spécifiques, une évaluation de la relation dose-réponse peut être jugée inutile. Toutefois, il est très improbable que cela se produise dans le cas d'un médicament vétérinaire dès lors que les fabricants ont généralement tendance à éliminer les composés génotoxiques pendant le processus de développement. Cela ne signifie pas que ce type de médicament n'existe pas, mais simplement que les procédures mises en place réduisent considérablement la probabilité que cela se produise.

- d) Populations sensibles

- 38. Veuillez décrire la plage de concentrations physiologiques (ou naturelles) des hormones sexuelles chez l'homme et préciser les variations de ces concentrations en fonction de l'âge, du groupe sexuel et des étapes physiologiques.**

M. Boisseau

315. Selon plusieurs publications scientifiques mentionnées par le CSMVSP dans son Avis de 1999, les concentrations endogènes d'hormones stéroïdiennes chez les femmes et chez les hommes sont les suivantes:

Hormone	Femmes prépubères	Femmes en phases folliculaire et lutéale	Femmes post-ménopausiques	Hommes prépubères	Hommes adultes
Œstradiol pg/ml	8-23	10-375	0-28	5-14	6-44
Œstrone pg/ml	19	15-250	15-55	16	15-65
Progestérone ng/ml	0,1-0,4	0,2624		0,1-0,3	0,3-0,5
Testostérone ng/ml	0,1-0,2	0,4-0,8	0,4-0,8	0,1-0,2	3-9

316. Selon les données mentionnées par le JECFA à l'occasion de sa trente-deuxième réunion, en 1987, et par le CSMVSP dans son Avis de 1999, les taux de production quotidienne d'hormones chez les femmes et chez les hommes sont les suivants:

Hormone	Femmes prépubères	Femmes en phase folliculaire	Femme enceintes	Hommes prépubères	Hommes adultes
Œstradiol µg/jour		445	37 800	6,5	48
Progestérone µg/jour		418	94 000	150	416
Testostérone µg/jour	32-65	140-240		32-65	6 500

317. Selon l'Avis de 1999 du CSMVSP, de nouveaux dosages biologiques ultrasensibles, 100 fois plus sensibles que les méthodes radio-immunologiques utilisées pour obtenir les données reproduites dans les tableaux ci-dessus, conduiraient à des valeurs inférieures, à savoir 0,6 pg/ml et 0,08 pg/ml d'œstradiol-17β respectivement pour les filles et pour les garçons prépubères. Il serait important de savoir si ces nouveaux dosages biologiques ont été adéquatement validés, ce qui n'est pas rapporté par cet avis du CSMVSP, et si les données obtenues par ces méthodes pour les hommes et les femmes sont totalement différentes de celles qui ont été obtenues par les méthodes radio-immunologiques.

39. Veuillez faire des commentaires concernant l'Avis du CSMVSP selon lequel "toute exposition excessive à l'œstradiol-17β et à ses métabolites consécutive à la consommation de viande ou de produits carnés peut représenter un risque pour la santé publique, s'agissant notamment des groupes de la population qui sont reconnus comme particulièrement sensibles, comme les enfants prépubères." [voir le paragraphe 147 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial]

M. Boisseau

318. Comme je l'ai dit précédemment, dans ma réponse à la question n° 31, il est nécessaire d'intégrer au commentaire du CSMVSP une évaluation quantitative du risque associé à cette exposition excessive pour les groupes de la population qui sont reconnus comme particulièrement sensibles, comme les enfants prépubères. Cette exposition excessive des populations sensibles doit être évaluée et comparée à l'exposition résultant de la consommation quotidienne de viande de bovins non traités aux activateurs de croissance, d'autres aliments et produits d'origine animale, et de leur propre production d'hormones.

M. Sippell²

319. L'Avis du CSMVSP selon lequel "toute exposition excessive à l'œstradiol-17β ... enfants prépubères" s'appuie sur un nombre croissant de preuves issues de données scientifiques publiées récemment dans la documentation internationale, aussi bien européenne qu'américaine. Du fait des

² On trouvera dans la pièce jointe n° 2 une liste complète des références mentionnées dans les réponses de M. Sippell.

concentrations sériques presque 100 fois inférieures d'œstradiol-17 β (E₂) trouvées par les techniques de dosage modernes ultrasensibles (Klein *et al.*, 1994, Larmore *et al.*, 2002) chez les enfants prépubères, par rapport aux dosages conventionnels d'E₂, le risque potentiel résultant de l'exposition à l'E₂ du fait de la consommation de viande et de produits carnés a été multiplié au moins par un facteur de 160 si l'on compare les estimations de la dose journalière maximale admissible (DJA), qui passe de 65 ng/jour (ancienne estimation) à 0,4 ng/jour (nouvelle estimation) chez les garçons prépubères (Andersson & Skakkebaek, 1999). Cette DJA seuil rectifiée serait atteinte après l'ingestion de seulement 10 g de viande bovine traitée à l'E₂ (Daxenberger *et al.*, 2001). De plus, dans cette comparaison, il a été tenu compte uniquement de l'E₂, à l'exclusion de ses nombreux métabolites œstrogènes, conjugués glucosidiques et esters d'acides gras (Maume *et al.*, 2001).

320. Des études réalisées *in vitro* et *in vivo*, ainsi que sur l'homme, parues dans de nombreuses publications scientifiques, indiquent que les enfants en bas âge et les jeunes prépubères sont extrêmement sensibles à l'accroissement des concentrations d'E₂ qui a pour effets un développement prématuré des seins (Schmidt *et al.*, 2002), une accélération de la croissance (Lampit *et al.*, 2002), une maturité sexuelle précoce chez les filles, en particulier aux États-Unis (Sun *et al.*, 2002, WU *et al.*, 2002) et moins en Europe (Muinck-Keizer & Mul, 2001), et l'incidence notablement plus élevée, et bien connue, de la puberté précoce chez les filles que chez les garçons (Teilmann *et al.*, 2005). Une exposition accidentelle de garçons prépubères aux œstrogènes a entraîné une gynécomastie et une accélération de la maturation osseuse (Felner & White, 2000).

321. Effets tardifs: il existe de plus en plus de preuves épidémiologiques de l'augmentation du risque de cancer du sein à l'âge adulte par suite d'une exposition à des concentrations élevées d'œstrogènes pendant les premiers moments de la vie (avant et après la naissance) (Ekblom *et al.*, 1997, Swerdlow *et al.*, 1997, Weiss *et al.*, 1997, Halakivi-Clarke *et al.*, 2000), alors que les conditions associées à de faibles concentrations d'E₂, telles que la pré-éclampsie, semblent avoir un effet protecteur (Innes & Byers 1999). En outre, des preuves indirectes portent à croire que certains troubles de la reproduction chez l'homme (cancer du testicule, cryptorchidisme, hypospadias, qualité spermatique médiocre) peuvent aussi avoir pour origine des troubles hormonaux induits par l'E₂ et/ou par des substances œstrogènes au cours de la vie fœtale (Skakkebaek *et al.*, 2001) et également pendant l'enfance (Higuchi *et al.*, 2003, Ramaswamy 2005).

Andersson AM & Skakkebaek NE (1999) Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact on human development and health. Eur. J. Endocrinol. 140, 477-485.

Daxenberger A, Ibarreta D & Meyer HH (2001) Possible health impact of animal oestrogens in food. Hum. Reprod. Update. 7, 340-355.

Ekblom A, Hsieh CC, Lipworth L, Adami HQ & Trichopoulos D (1997) Intrauterine environment and breast cancer risk in women: a population-based study. J. Natl. Cancer Inst. 89, 71-76.

Felner EI & White PC (2000) Prepubertal gynecomastia: indirect exposure to estrogen cream. Pediatrics 105, E55.

Halakivi-Clarke L, Cho E, Onojafe I, Liao DJ & Clarke R (2000) Maternal exposure to tamoxifen during pregnancy increases carcinogen-induced mammary tumorigenesis among female rat offspring. Clin. Cancer Res. 6, 305-308.

Higuchi TT, Palmer JS, Gray LE, Jr. & Veeramachaneni DN (2003) Effects of dibutyl phthalate in male rabbits following in utero, adolescent, or postpubertal exposure. Toxicol. Sci. 72, 301-313.

Innes KE & Byers TE (1999) Preeclampsia and breast cancer risk. Epidemiology 10, 722-732.

Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP & Cutler GB, Jr. (1994) Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. J. Clin. Invest 94, 2475-2480.

Lampit M, Golander A, Guttmann H & Hochberg Z (2002) Estrogen mini-dose replacement during GnRH agonist therapy in central precocious puberty: a pilot study. J. Clin. Endocrinol. Metab 87, 687-690.

Larmore KA, O'Connor D, Sherman TI, Funanage VL, Hassink SG & Klein KO (2002) Leptin and estradiol as related to change in pubertal status and body weight. Med. Sci. Monit. 8, CR206-CR210.

Maume D, Deceuninck Y, Pouponneau K, Paris A, Le Bizec B & Andre F (2001) Assessment of estradiol and its metabolites in meat. APMIS 109, 32-38.

Muinck-Keizer SM & Mul D (2001) Trends in pubertal development in Europe. Hum. Reprod. Update. 7, 287-291.

Ramaswamy S (2005) Pubertal augmentation in juvenile rhesus monkey testosterone production induced by invariant gonadotropin stimulation is inhibited by estrogen. J. Clin. Endocrinol. Metab 90, 5866-5875.

Schmidt IM, Chellakooty M, Haavisto AM, Boisen KA, Damgaard IN, Steendahl U, Toppari J, Skakkebaek NE & Main KM (2002) Gender difference in breast tissue size in infancy: correlation with serum estradiol. Pediatr. Res. 52, 682-686.

Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E & Main KM (2001) Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. Hum. Reprod. 16, 972-978.

Teilmann G, Pedersen CB, Jensen TK, Skakkebaek NE & Juul A (2005) Prevalence and incidence of precocious pubertal development in Denmark: an epidemiologic study based on national registries. Pediatrics 116, 1323-1328.

- 40. Les Communautés européennes affirment que "les niveaux de production endogène des hormones chez les enfants prépubères sont beaucoup plus faibles qu'on ne le pensait précédemment et cette constatation, qui est postérieure au rapport de 1999 du JECFA, jette des doutes graves sur la validité des conclusions de cet organisme concernant la relation dose-réponse ..." Veuillez faire des commentaires sur la méthodologie utilisée par le CSMVSP pour appuyer la conclusion selon laquelle les concentrations d'hormones sont plus faibles qu'on ne le pensait précédemment, et en particulier sur la validité de cette méthodologie et des conclusions atteintes. Vos conclusions auraient-elles été différentes lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003?**

M. Boisseau

322. Le commentaire que j'ai donné à la fin de la question n° 38 répond à cette question.

323. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Production d'hormones chez les enfants prépubères

324. Il existe assurément certaines preuves indiquant que les concentrations endogènes d'hormones chez les enfants sont plus faibles qu'on ne le pensait auparavant. Toutefois, la suggestion selon laquelle cette différence est de plusieurs ordres de grandeur n'est pas étayée par les données. Un groupe a signalé de très faibles concentrations d'œstradiol chez les enfants de sexe masculin, 0,08 pg/ml (*Klein et al., 1994*), mais, dans une étude ultérieure, ce même groupe a fait mention de concentrations quelque peu supérieures, 0,27 pg/ml (*Klein et al., 1998*). La fiabilité des dosages de *Klein et al.* reste à déterminer. Le dosage est particulièrement sensible à l'œstradiol, mais il n'existe aucune explication évidente à ce fait dès lors qu'il repose sur l'affinité vis-à-vis du récepteur des œstrogènes. Le diéthylstilbestrol (DES) est un œstrogène puissant, qui se montre pourtant beaucoup moins sensible que l'œstradiol dans le dosage. *Klein et al. (1994)* ont signalé que des facteurs non identifiés dans le plasma et les tubes de prélèvement de sang peuvent interférer avec le dosage. En revanche, *Coldham et al. (1997)* ont trouvé, grâce à un dosage similaire à base de levure, que l'œstradiol et le DES ont des puissances analogues, et d'autres chercheurs ont déterminé que, s'il existe une différence, le DES se révèle plus puissant que l'œstradiol dans de tels dosages (*Folmer et al., 2002*). Le moins qu'on puisse dire, c'est que les résultats obtenus grâce au dosage du gène rapporteur de levure ne sont guère cohérents et que l'utilisation de telles données dans le cadre de l'évaluation des risques exige une validation adéquate du dosage.

Coldham NG, Dave M, Sivapathasundaram S, McDonnell DP, Connor C et Sauer MJ (1997). Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. Environ Health Perspect, 105:734-742

Folmar LC, Hemmer MJ, Denslow ND, Kroll K, Chen J, Cheek A, Richman H, Meredith H et Grau EG (2002). A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor in vivo and in vitro. Aquat Toxicol, 60:101-110

Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP et Cutler GB Jr (1994). Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. J Clin Invest, 94:2475-2480

Klein KO, Baron J, Barnes KM, Pescovitz OH et Cutler GB Jr (1998). Use of an ultrasensitive recombinant cell bioassay to determine estrogen levels in girls with precocious puberty treated with a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. J Clin Endocrinol Metab, 83:2387-2389

325. Toutefois, des études réalisées par deux autres groupes à l'aide de méthodes plus spécifiques que le dosage radio-immunologique originel ont signalé des concentrations plutôt supérieures. La technique très sensible de dosage immunologique en deux étapes utilisée par *Ikegami et al. (2001)* s'est avérée spécifique et sensible. Elle a permis de mesurer des concentrations moyennes d'œstradiol de 1,85 pg/ml (6,8 pmol/ml) chez les garçons prépubères. *Paris et al. (2002)* a utilisé un dosage du récepteur des œstrogènes recombinant dans une lignée de cellules de mammifères, qui applique un principe similaire à celui du dosage de *Klein et al.* Les concentrations d'œstrogènes chez les garçons prépubères mesurées par cette étude étaient de 1,44 pg/ml. De nombreux problèmes affectent ces mesures, en particulier la présence de protéines de liaison, une spécificité et une sensibilité relatives. Aucun des dosages n'est entièrement spécifique pour l'œstradiol. Autant le récepteur des œstrogènes que les anticorps utilisés sont susceptibles de réactions croisées avec des composés structurellement liés. Selon la façon d'effectuer le dosage, la liaison à des protéines peut réduire la concentration d'hormone détectable du fait de la séquestration de l'hormone de la cible du dosage. Il convient toutefois de noter que si la liaison aux protéines plasmatiques est susceptible de réduire la clairance, elle réduit également la dose biologiquement active. En général c'est la concentration en hormone

libre qui détermine l'activité biologique (*Teegarden et Barton, 2004*). En conséquence, un taux élevé de protéine SHBG chez les enfants tendrait à réduire la concentration d'hormone libre et, de ce fait, l'effet d'une concentration totale équivalente dans le plasma.

326. Les dosages de récepteurs recombinants présentent l'avantage de mesurer le matériel biologiquement actif, alors que les dosages immunologiques peuvent inclure des métabolites à réaction croisée moins actifs, ou inactifs. Bien que les dosages de récepteurs recombinants puissent inclure des substances dotées d'activité hormonale distinctes de l'analyte spécifique, ils permettent d'obtenir une indication de ce à quoi l'organisme est exposé *in vivo*. En conséquence, tout compte fait, les données de *Paris et al. (2002)* sont sans doute les plus valables à ce jour. Elles font vraisemblablement apparaître la totalité du matériel œstrogène actif circulant, mais non les œstrogènes liés à des protéines.

Ikegami S, Moriwake T, Tanaka H, Inoue M, Kubo T, Suzuki S, Kanzakili S et Seino Y (2001). An ultrasensitive assay revealed age-related changes in serum oestradiol at low concentrations in both sexes from infancy to puberty. Clin Endocrinol (Oxf), 55:789-795

Paris F, Servant N, Terouanne B, Balaguer P, Nicolas JC et Sultan C (2002). A new recombinant cell bioassay for ultrasensitive determination of serum estrogenic bioactivity in children. J Clin Endocrinol Metab, 87:791-797

Teegarden JG et Barton HA (2004). Computational modeling of serum-binding proteins and clearance in extrapolations across life stages and species for endocrine active compounds. Risk Anal, 24:751-770

327. Une concentration plasmatique supposée de 1,44 pg/ml (*Paris et al., 2002*) serait équivalente à une production quotidienne d'œstradiol de 2 µg/jour. Ces données donnent à penser qu'une exposition à des concentrations d'œstradiol proches de la DJA de 50 ng/kg fixée par le JECFA, équivalente à 1,3 µg/jour (en supposant un poids corporel de 26 kg) pourrait entraîner des apports proches de la production quotidienne d'œstradiol chez les garçons prépubères, c'est-à-dire dans le groupe considéré comme étant le plus en danger. Toutefois cette exposition se produirait par la voie orale, et la biodisponibilité par cette voie est très faible (inférieure à 5 pour cent) (*Fortherby, 1996*). En outre, une très petite partie de l'hormone absorbée serait libre puisque plus de 95 pour cent de cette hormone est liée à des protéines plasmatiques comme la protéine SHBG. Cette liaison réduit l'activité biologique de l'hormone (*Teegarden et Barton, 2004*). En conséquence, la DJA fixée par le JECFA semblerait appropriée pour tous les groupes de la population. Cette conclusion aurait été la même au moment de l'adoption de la directive des CE, en septembre 2003.

M. Sippell

328. Il ne fait aucun doute que la mise au point d'un dosage biologique ultrasensible de l'E₂ sur des cellules recombinantes (technique RCBA: *recombinant cell bioassay*) par Karen Klein, Gordon Cutler et leurs collaborateurs des National Institutes of Health (NIH) de Bethesda, États-Unis (*Klein et al., 1994*) a constitué un bond prodigieux dans la méthodologie des dosages de l'E₂. Cette technique a ouvert une nouvelle voie qui nous permet de mieux comprendre certains phénomènes physiologiques fondamentaux, tels que la raison pour laquelle la puberté normale commence de façon tellement plus précoce chez les filles que chez les garçons, ou la raison pour laquelle la maturation osseuse des enfants est si différente selon le sexe. La validité du RCBA du NIH est à présent confirmée par un nouveau dosage RCBA de l'E₂ développé par le groupe de Charles Sultan, à l'Université de Montpellier, France (*Paris et al., 2002*). Malheureusement, la complexité du RCBA fait encore obstacle à un usage généralisé de cette technique pour des mesures de routine sur de petits échantillons de sérum prélevés sur des enfants en bas âges et des jeunes prépubères.

329. Étant donné que les endocrinologues pédiatriques et d'autres chercheurs de ce domaine ont entendu parler et discuté de ces découvertes décisives dès 1993/94, et une nouvelle fois en 2001/02, mes conclusions auraient certainement été identiques en septembre 2003.

Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP & Cutler GB, Jr. (1994) Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. J. Clin. Invest 94, 2475-2480.

Paris F, Servant N, Terouanne B, Balaguer P, Nicolas JC & Sultan C (2002) A new recombinant cell bioassay for ultrasensitive determination of serum estrogenic bioactivity in children. J. Clin. Endocrinol. Metab 87, 791-797.

41. Pourquoi les individus présentant les plus faibles concentrations d'hormones endogènes seraient-ils le plus en danger? De quelle manière les risques découlant des hormones naturellement présentes dans la viande seraient-ils différents, pour ces individus, des risques générés par les résidus d'activateurs de croissance hormonaux?

M. Boisseau

330. Les individus présentant les plus faibles concentrations d'hormones endogènes sont considérés par le JECFA comme étant en plus grand danger en raison du principe posé par cet organisme selon lequel il est nécessaire, dans le cas des hormones naturelles, d'éviter que tout apport excédentaire de résidus dotés d'activité hormonale ait une importance significative par rapport au taux de production quotidienne d'hormones, de manière à éviter tout trouble physiologique. À cet égard, le but poursuivi est de faire en sorte que les apports de résidus hormonaux ne représentent pas plus de 1 pour cent du taux de production journalière de n'importe quel groupe de la population humaine. En conséquence, plus la production endogène d'hormones est faible chez un groupe humain donné, plus l'apport excédentaire de résidus dotés d'activité hormonale doit être réduit pour les individus du groupe.

331. D'un point de vue qualitatif, pour ces individus, les risques générés par les résidus provenant de l'usage d'activateurs de croissance hormonaux sur les bovins ne diffèrent pas des risques liés aux résidus d'hormones naturellement présentes dans la viande. Le problème éventuel qui risque de survenir est uniquement d'ordre quantitatif.

M. Boobis

Rapport entre les concentrations d'hormones endogènes et le risque

332. La raison pour laquelle les personnes présentant les plus faibles niveaux de production d'hormones sont considérées comme étant le plus en danger est imputable au fait que pour une exposition donnée, elles connaîtront la variation la plus élevée de leur concentration d'hormones en circulation. Il existe des preuves indiquant que les concentrations sont normalement faibles chez ces sujets pour que l'effet biologique assuré ne soit pas supérieur à ce qui convient à leur sexe et à leur âge. En conséquence, l'ampleur de la réaction biologique reflète probablement l'augmentation en pourcentage des concentrations d'hormones. Par ailleurs, certains systèmes biologiques sont plus sensibles aux déséquilibres hormonaux avant qu'après la puberté (*Caruso-Nicoletti et al., 1985; Miyamoto and Burger, 2003*).

Caruso-Nicoletti M, Cassorla F, Skerda M, Ross JL, Loriaux DL et Cutler GB Jr (1985). Short term, low dose estradiol accelerates ulnar growth in boys. J Clin Endocrinol Metab, 61:896-898

333. Rien ne porte à penser que l'effet des activateurs de croissance hormonaux puisse être différent de quelque manière que ce soit de celui des hormones naturellement présentes dans la viande, à des niveaux d'exposition interne équivalents.

M. Sippell

334. J'ai répondu ci-dessus (voir ma réponse à la question n° 39), en grande partie, à cette question relative à la vulnérabilité spécifique des jeunes enfants qui ont les concentrations les plus faibles d'hormones endogènes (œstradiol, testostérone, progestérone et leurs métabolites).

335. À ma connaissance, le risque encouru par les enfants du fait des hormones naturellement présentes dans la viande, comparé au risque lié aux résidus d'activateurs de croissance hormonaux, a été estimé uniquement pour l'E₂ et exclusivement dans la viande de bœuf (Daxenberger *et al.*, 2001). La teneur moyenne en E₂ de 500 g de viande était de 4,3 ng et de 20 ng respectivement pour la viande bovine non traitée et la viande traitée (consommation journalière standard de 300 g de muscle, 100 g de foie, 50 g de rognons et 50 g de graisse selon le JECFA). Le nouveau seuil de 0,4 ng d'E₂/jour serait donc atteint après l'ingestion de 47 g de viande non traitée et de seulement 10 g de viande traitée aux hormones. Les auteurs mentionnés ont également estimé que la consommation de viande bovine traitée à l'E₂ augmentait la dose journalière d'E₂ d'origine alimentaire de 38 pour cent par rapport à la viande non traitée. Cette proportion et, de ce fait, le risque sanitaire potentiel, augmentent de façon considérable si l'apport alimentaire provenant de la viande de porc et de volaille, des œufs et des produits laitiers issus d'animaux de ferme traités à l'E₂ est pris en compte.

336. Il a été démontré que les activateurs de croissances hormonaux de synthèse tels que le zéranol et ses métabolites sont aussi puissants que l'E₂ et le diéthylstilbestrol (DES) pour augmenter l'expression des gènes associés à l'action des œstrogènes dans les cellules cancéreuses du sein humain (Leffers *et al.*, 2001). D'un autre côté, l'androgène de synthèse trenbolone et le gestagène mélangestrol se lient avec une affinité élevée respectivement aux récepteurs humains des androgènes et de la progestérone (Bauer *et al.*, 2000). Une exposition pendant la grossesse risque d'entraîner une virilisation transplacentaire du fœtus femelle.

Bauer ER, Daxenberger A, Petri T, Sauerwein H & Meyer HH (2000) Characterisation of the affinity of different anabolics and synthetic hormones to the human androgen receptor, human sex hormone binding globulin and to the bovine progesterin receptor. APMIS 108, 838-846.

Daxenberger A, Ibarreta D & Meyer HH (2001) Possible health impact of animal oestrogens in food. Hum. Reprod. Update. 7, 340-355.

Leffers H, Naesby M, Vendelbo B, Skakkebaek NE & Jorgensen M (2001) Oestrogenic potencies of Zeranone, oestradiol, diethylstilboestrol, Bisphenol-A and genistein: implications for exposure assessment of potential endocrine disruptors. Hum. Reprod. 16, 1037-1045.

42. À votre avis, dans quelle mesure le JECFA a-t-il tenu compte de la situation particulière des populations sensibles, notamment des enfants prépubères, dans ses évaluations de risques concernant l'œstradiol-17β? Veuillez comparer les données d'origine relatives à la production endogène d'hormones naturelles par les enfants prépubères sur laquelle le JECFA a fondé son évaluation, avec les données utilisées par les Communautés européennes dans leur évaluation des risques. Selon vous, la documentation scientifique mentionnée par les Communautés européennes exige-t-elle une révision de la recommandation du Codex concernant l'œstradiol-17β?

M. Boisseau

337. Les individus présentant les plus faibles concentrations d'hormones endogènes sont considérés par le JECFA comme étant en plus grand danger en raison du principe posé par cet organisme selon lequel il est nécessaire, dans le cas des hormones naturelles, d'éviter que tout apport excédentaire de résidus dotés d'activité hormonale ait une importance significative par rapport au taux de production quotidienne d'hormones, de manière à éviter tout trouble physiologique. À cet égard, le but poursuivi est de faire en sorte que les apports de résidus hormonaux ne représentent pas plus de 1 pour cent du taux de production journalière de n'importe quel groupe de la population humaine. En conséquence, plus la production endogène d'hormones est faible chez un groupe humain donné, plus l'apport excédentaire de résidus dotés d'activité hormonale doit être réduit pour les individus du groupe.

338. D'un point de vue qualitatif, pour ces individus, les risques qui découlent de résidus provenant de l'usage d'activateurs de croissance hormonaux sur les bovins ne diffèrent pas des risques liés aux résidus d'hormones naturellement présentes dans la viande. Le problème éventuel qui risque de survenir est uniquement d'ordre quantitatif.

M. Boobis

Prise en considération des populations sensibles par le JECFA

339. Conformément aux principes du JECFA en matière d'évaluation des risques, la DJA établie par cet organisme devait être calculée de manière à protéger tous les segments de la population, y compris les enfants prépubères (*PISC: EHC 70, 1987 et EHC 104, 1990; PISC, 2005; OMS, 1996 et 2001*). C'est pourquoi, en fixant la DJA à partir de la DSEIO dans une étude sur l'homme, le JECFA a utilisé un facteur de sécurité de dix pour protéger les populations sensibles, ajouté à un facteur de dix pour tenir compte des variations interindividuelles au sein de la population humaine adulte. Pour une évaluation de l'incidence sur l'évaluation des risques des différences dans la production endogène d'hormones estimée par le JECFA et les CE, voir ma réponse à la question n° 40 ci-dessus.

340. À mon avis, les documents mentionnés par les Communautés européennes ne justifient aucune révision de la recommandation du Codex en ce qui concerne l'œstradiol-17β.

M. Sippell

341. Pour autant que je sache, la situation particulière des populations sensibles, notamment des enfants en bas âge et prépubères, n'a pas été prise en compte de façon adéquate par le JECFA en ce qui a trait à l'E₂.

342. Les données d'origine sur les enfants prépubères utilisées par le JECFA ont été contestées dans de nombreuses publications récentes (Andersson & Skakkebaek 1999, Maume *et al.*, 2001, Partsch & Sippell 2001), eu égard à la nouvelle DJA basée sur la détermination ultrasensible de l'E₂ chez les enfants par la technique RCBA. Une comparaison des données a déjà été fournie dans la réponse aux questions n° 39 et 41.

343. À mon avis, la documentation scientifique à laquelle font référence les Communautés européennes exige sans aucun doute une révision de la recommandation du Codex concernant l'E₂.

Andersson AM & Skakkebaek NE (1999) Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact on human development and health. Eur. J. Endocrinol. 140, 477-485.

Maume D, Deceuninck Y, Pouponneau K, Paris A, Le Bizec B & Andre F (2001) Assessment of estradiol and its metabolites in meat. APMIS 109, 32-38.

Partsch CJ & Dr. Sippell WG (2001) Pathogenesis and epidemiology of precocious puberty. Effects of exogenous oestrogens. Hum. Reprod. Update. 7, 292-302.

[Pour les questions comprises dans la présente section, voir les paragraphes 121 et 122 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 103 et 104 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), les pièces EC-88 et 99, les paragraphes 42 à 45 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, les paragraphes 84 et 159 de la première communication des États-Unis, et, pour les travaux du JECFA, les pièces CDA-11, 16, 17, 18 et 39.]

e) Biodisponibilité

43. Veuillez donner une définition de la biodisponibilité. Veuillez faire des commentaires sur l'importance de la biodisponibilité pour l'évaluation des risques, et sur le degré de biodisponibilité des résidus des hormones en cause lorsqu'ils sont consommés dans la viande, en tenant compte des divergences d'opinion des parties à ce sujet. [Voir les paragraphes 123 et 124 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 105 et 106 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), le paragraphe 100, et les paragraphes 155 à 159 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, les paragraphes 32, 41 et 42 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, les paragraphes 69, 71, 88, 89 et 146 de la première communication des États-Unis, et le paragraphe 134 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation.]

M. Boisseau

344. La biodisponibilité s'entend de la capacité d'une substance de pénétrer dans la circulation sanguine générale et de se répandre dans l'ensemble de l'organisme de l'animal ou de l'être humain auquel cette substance a été administrée. Les caractéristiques physico-chimiques des substances et leurs voies d'administration à l'homme ou aux animaux sont d'une importance primordiale pour ce qui concerne leur taux de biodisponibilité. La voie orale, qui est celle de l'ingestion des résidus, n'est pas la plus efficace. Elle est même très médiocre pour les trois hormones naturelles.

345. La biodisponibilité des résidus doit être prise en considération dans l'évaluation des risques, en particulier à la troisième étape qui concerne l'évaluation de l'exposition aux résidus. Les résidus non biodisponibles ne posent pas de problèmes de santé publique si le potentiel toxicologique de la substance est systémique. Les résidus dont la biodisponibilité n'a pas été déterminée sont tenus pour totalement biodisponibles. Ceux qui ont été reconnus comme n'étant pas biodisponibles peuvent être éliminés de l'évaluation des risques.

346. La biodisponibilité des hormones naturelles chez l'homme est notoirement faible: l'œstradiol-17 β est inactif par la voie orale, la biodisponibilité de la progestérone et celle de la testostérone sont respectivement de moins de 10 pour cent et d'environ 4 pour cent.

347. La biodisponibilité des résidus de mélengestrol, de trenbolone et de zéranol n'a pas été déterminée. Tous les résidus de ces composés sont, de ce fait, considérés comme étant totalement biodisponibles.

M. Boobis

348. La biodisponibilité peut être définie comme étant la fraction d'une dose qui est disponible à la circulation systémique. Sa valeur varie de zéro, aucune biodisponibilité systémique, à 1, disponibilité de 100 pour cent. On l'estime normalement en comparant l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps (ASC), corrigée selon la dose, après administration du produit par la voie d'intérêt, par exemple par la voie orale, avec l'ASC corrigée selon la dose, après administration par voie intraveineuse du produit (supposé complètement disponible) (Rowland et Tozer, 1995). La biodisponibilité exprime le degré d'absorption, ainsi que tout métabolisme présystémique susceptible d'intervenir. Dans le cas de la voie orale, le métabolisme présystémique peut survenir au niveau du tractus intestinal et/ou du foie.

Rowland M et Tozer T (1995). Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, Lippincott Williams and Wilkins, London.

349. D'une manière générale, seule la fraction biodisponible de la dose est importante du point de vue toxicologique. Des exceptions peuvent se produire lorsqu'une partie ou la totalité de la portion non biodisponible est transformée en un métabolite biodisponible et biologiquement actif, ou lorsque les effets qui posent problème se produisent au niveau présystémique, ce qui est le cas des effets locaux sur la muqueuse gastro-intestinale, par exemple. Dans le cas des hormones naturelles, la faible biodisponibilité est due à un métabolisme présystémique aboutissant à des produits présentant une activité hormonale très réduite; la biodisponibilité des hormones naturelles est inférieure à 5-10 pour cent (Christiaens et al., 2005; Hoogenboom et al., 2001; JECFA, 2000; Jockenhövel, 2002; Kuhn et al., 1993; Stanczyk, 2003). Les effets qui posent problème sont systémiques. En conséquence, la signification toxicologique de la faible biodisponibilité des hormones est que le risque est inférieur à celui qui est généré par la dose équivalente produite de façon endogène ou administrée par une autre voie permettant une biodisponibilité supérieure (implant sous-cutané, par exemple).

Christiaens V, Berckmans P, Haelens A, Witters H et Claessens F (2005). Comparison of different androgen bioassays in the screening for environmental (anti)androgenic activity. Environ Toxicol Chem, 24:2646-2656.

Hoogenboom LAP, de Haan L, Hooijerink D, Bor G, Murk AJ et Brouwer A (2001). Estrogenic activity of estradiol and its metabolites in the ER-CALUX assay with human T47D breast cells. APMIS, 109:101-107.

Jockenhövel F (2002). Practical aspects of testosterone substitution. Aging Male, 5 (Suppl 1):21-46.

Stanczyk FZ (2003). All progestins are not created equal. Steroids, 68:879-890.

350. Toutefois, une faible biodisponibilité n'augmente pas nécessairement la marge de sécurité (le rapport entre la DJA et l'exposition réelle). Cela s'explique par le fait que les effets qui posent problème sont habituellement déterminés à la suite d'une exposition par la voie d'intérêt, dans ce cas par la voie orale. La DJA représente donc une "biodisponibilité ajustée", tout comme l'apport journalier maximal théorique (AJMT). En conséquence, tout ce qui est susceptible d'augmenter la biodisponibilité réduit de ce fait la marge de sécurité et, inversement, tout ce qui est susceptible de réduire la biodisponibilité augmente la marge de sécurité. Dans le cas des hormones naturelles, les variations de la biodisponibilité proviennent probablement de modifications des enzymes du métabolisme dans le foie et/ou l'intestin grêle.

351. Pour autant que je sache, la biodisponibilité des hormones non naturelles (acétate de méléngestrol, acétate de trenbolone et zéranol) chez l'homme n'est pas connue. Elle est probablement

inférieure à 100 pour cent, mais on ne dispose d'aucun renseignement précis. Il convient toutefois de noter que dans l'évaluation des risques liés à ces hormones effectuée par le JECFA, la caractérisation des risques mettait en jeu une comparaison entre l'apport journalier maximal théorique et la DJA. Aucune correction n'a été apportée pour tenir compte de la biodisponibilité. La situation est donc probablement semblable à ce qu'elle est pour les hormones naturelles, c'est-à-dire que des modifications de la biodisponibilité par rapport à la valeur normale entraîneraient des modifications de la marge de sécurité.

M. Guttenplan

352. La biodisponibilité est définie comme étant la fraction d'une substance chimique administrée par voie orale qui atteint la circulation générale, par rapport à la fraction qui atteint la circulation après introduction par injection intraveineuse.

353. On suppose que les effets indésirables (ou les effets quels qu'ils soient) sont produits uniquement par la substance chimique biodisponible, de sorte qu'en ce qui concerne l'évaluation des risques, seule la fraction biodisponible de la dose est importante. (*Toxicokinetics in the National Toxicology Program. NIDA Research Monograph. 173:273-304, 1997*)

354. Les États-Unis et le Canada soutiennent que l'œstradiol (la plus importante des hormones potentiellement nocives) ingéré par voie orale est essentiellement inactif en raison de sa faible biodisponibilité.

355. Selon les États-Unis (paragraphe 41, communication des États-Unis présentée à titre de réfutation): "les CE affirment que l'argument des États-Unis, suivant lequel l'œstradiol-17 β est généralement inactif quand il est administré par voie orale, quoique "bien connu", est toujours controversé et n'est pas unanimement accepté par la communauté scientifique." Au contraire, la faible biodisponibilité orale de l'œstradiol trouve un appui international auprès du Codex et du JECFA ("en général l'œstradiol-17 β est inactif quand il est administré par voie orale parce que ce produit est inactivé dans le tractus gastro-intestinal et dans le foie"), tout autant qu'auprès du Comité des médicaments à usage vétérinaire, au sein des Communautés européennes, qui fait remarquer que "la biodisponibilité des esters d'œstradiol-17 β après administration orale est faible (3 pour cent, tout comme l'œstradiol non modifié), mais pourrait être supérieure si l'on incluait l'œstrone, un métabolite œstrogénique". Les États-Unis font également mention du fait que dans un modèle de culture cellulaire (cellules intestinales humaines immortalisées (cellules Caco-2)), les œstrogènes ne pénètrent pas à l'intérieur de la cellule, bien que le métabolite convertible de l'œstradiol ait été détecté dans les cellules. Les États-Unis soutiennent que ce fait soutient l'hypothèse selon laquelle l'œstradiol ne peut pas traverser la paroi intestinale. Cette dernière découverte semble paradoxale dès lors que, d'une manière ou d'une autre, l'œstradiol a été converti en œstrone, de sorte qu'il a dû pénétrer dans la cellule.

356. Par ailleurs, les CE soutiennent (communication des CE présentée à titre de réfutation, paragraphe 123) que "des faits récents mettent en doute les conclusions du rapport de 1999 du JECFA en ce qui concerne la biodisponibilité des résidus de ces hormones. Le CSMVSP, selon ses rapports de 1999 et de 2002, a découvert que les données sur lesquelles le JECFA a fondé ses conclusions sont inexactes ou insuffisantes." Par exemple, "l'étude du métabolisme de l'œstradiol-17 β administré par voie orale montre qu'une dose de 2 mg d'E₂ micronisé est absorbée dans une proportion qui atteint 20 pour cent, avec une demi-vie dans le sérum qui va de deux à 16 heures (*Zimmermann et al., 1998; Vree et Timmer, 1988; Ginsburg et al., 1998*), et cette étude indique que selon le rapport susmentionné la biodisponibilité de l'œstradiol-17 β en fines particules administré par voie orale était égale à 5 pour cent de celle que permettait d'obtenir une dose de ce composé administrée en intraveineuse. Il est également souligné (communication des CE présentée à titre de réfutation, paragraphe 124) que les esters lipodiques (métabolites d'œstradiol) présentent une biodisponibilité

élevée et peuvent s'accumuler dans les tissus adipeux. Aucune donnée n'est fournie à l'appui de l'hypothèse de l'accumulation, bien que celle-ci paraisse raisonnable.

357. Il semble que la biodisponibilité des œstrogènes soit faible mais non négligeable (probablement entre 5 et 20 pour cent s'il est tenu compte également de l'œstrone: l'œstrone est facilement convertible en œstrogène et réciproquement). Des calculs, présentés dans le document mentionné plus haut, portent à croire que même avec de faibles pourcentages de biodisponibilité des œstrogènes, les concentrations présentes dans la viande pourraient aboutir à des œstrogènes biodisponibles approchant la production journalière d'œstradiol chez les enfants prépubères (communication des CE présentée à titre de réfutation, paragraphe 122). Cela constituerait un facteur de risque (communication des CE présentée à titre de réfutation, paragraphe 122).

f) Bonnes pratiques vétérinaires

44. Veuillez donner une définition des expressions "bonnes pratiques vétérinaires" et/ou "bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires". Quelles sont les normes, directives ou recommandations pertinentes du Codex concernant ces pratiques? Veuillez faire des commentaires sur l'affirmation des Communautés européennes selon laquelle la définition des bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires est "circulaire et, partant, problématique". [voir le paragraphe 88 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial]

M. Boisseau

358. Il existe plusieurs définitions des bonnes pratiques vétérinaires, et la suivante, adoptée par le Codex, est satisfaisante: "Les bonnes pratiques en matière d'emploi des médicaments vétérinaires constituent l'usage officiellement recommandé ou autorisé, y compris les temps d'attente à respecter, approuvés par les autorités nationales, des médicaments vétérinaires administrés dans les conditions pratiques."

359. Néanmoins, à ma connaissance, la seule directive de la Commission du Codex portant sur les bonnes pratiques vétérinaires a été adoptée en juillet 2005 dans l'intention de réduire au minimum et de maîtriser la résistance microbienne. La Commission n'a adopté aucune directive sur les bonnes pratiques vétérinaires visant à réduire au minimum la présence de résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale.

360. L'observation des Communautés européennes concernant les bonnes pratiques vétérinaires n'est pas claire. Je suppose que les CE veulent dire que les conditions d'usage des médicaments vétérinaires, même officiellement approuvées, sont susceptibles de varier de façon très notable d'un pays à un autre.

M. De Brabander

361. Très probablement, plusieurs définitions peuvent être appliquées à l'expression "bonnes pratiques vétérinaires". Je propose ci-dessous celle des vétérinaires d'Europe

Fédération vétérinaire européenne: code de bonnes pratiques vétérinaires

Les vétérinaires jouent un rôle important dans la protection du bien-être et de la santé des animaux, de la santé publique, ainsi que de l'environnement, et fournissent une large gamme de services.

Le présent code de bonnes pratiques vétérinaires est une norme spécifiant l'éthique et les principes de conduite européens en matière vétérinaire, ainsi que les prescriptions relatives au système de gestion de la qualité au sein d'une organisation vétérinaire, lorsque celle-ci:

1. *souhaite améliorer son aptitude à fournir des services en conformité avec:*
 - *la législation en vigueur,*
 - *le code de déontologie professionnelle en vigueur,*
 - *les exigences de la clientèle,*
 - *les principes éthiques concernant les services fournis et/ou les animaux placés à sa garde;*
2. *doit démontrer sa capacité de fournir des services qui soient en accord, à tout moment, avec les exigences de la clientèle et la législation en vigueur.*

362. Une sélection de paragraphes sur la santé publique et l'environnement est également donnée ci-dessous:

2. *G Le vétérinaire et la santé publique*

- *Le vétérinaire doit chercher à garantir la meilleure protection de la santé publique.*
- *Le vétérinaire doit, chaque fois que cela est approprié, donner des conseils à ses clients concernant les mesures à prendre pour réduire au minimum les risques d'exposition aux agents zoonotiques, aux agents pathogènes d'origine alimentaire, aux résidus, aux contaminants (agents biologiques et chimiques), et pour réduire la résistance aux antimicrobiens.*
- *Le vétérinaire doit faire en sorte que les propriétaires d'animaux prennent conscience de leurs responsabilités vis-à-vis du public.*

2. *H Le vétérinaire et l'environnement*

- *Le vétérinaire doit tenter de diminuer la pollution de l'environnement et à cet effet éviter les déchets, pratiquer le recyclage, utiliser, le cas échéant, des articles réutilisables, et éliminer les déchets de façon adéquate.*
- *Le vétérinaire doit s'efforcer de réduire la pollution de l'environnement en utilisant les désinfectants, les produits médicaux et les autres substances chimiques avec prudence et opportunité.*
- *Le vétérinaire doit s'appliquer à respecter l'environnement en veillant à utiliser l'énergie et l'eau de façon économique.*
- *Le vétérinaire doit mettre en place les équipements nécessaires à la sélection des différents types de déchets afin que ceux-ci puissent être envoyés aux centres de tri appropriés.*
- *Le vétérinaire doit encourager ses clients à évacuer leurs déchets vétérinaires avec prudence.*

363. Cette sélection illustre l'importance des vétérinaires en matière de diminution de la pollution de l'environnement et le lien entre l'analyse des résidus et les sciences environnementales. Cela s'applique également à l'usage des hormones.

364. *Selon la définition du CCRVDF, on entend par bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires l'usage officiellement recommandé ou autorisé, y compris les temps d'attente à respecter, approuvés par les autorités nationales, des médicaments vétérinaires administrés dans les conditions pratiques (document: Code d'usages international recommandé pour le contrôle de l'utilisation des médicaments vétérinaires cac/rcp 38-1993; cxp_038e).*

365. La déclaration des Communautés européennes selon laquelle la définition des bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires est "**quelque peu** circulaire et, partant, problématique" fait allusion au fait que les autorités nationales exercent une grande influence sur cette norme dite internationale et peuvent agir sur son application.

366. Ni les bonnes pratiques vétérinaires ni les bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires ne permettront de réduire le risque inhérent à l'utilisation des hormones, pour plusieurs raisons. L'éducation joue également un rôle important dans ce domaine. Voici deux ans, nous avons reçu quelques étudiants en médecine vétérinaire américains dans le cadre d'un programme d'échange: leurs connaissances concernant "les hormones", leur usage aux États-Unis et les risques impliqués, étaient presque inexistantes.

45. Lorsqu'on procède à une évaluation des risques liés à des médicaments vétérinaires spécifiques, quelles sont les hypothèses envisagées, s'il en est, en ce qui concerne les bonnes pratiques vétérinaires? Comment sont examinés, si tant est qu'ils le sont, les risques susceptibles de se présenter du fait de l'inobservation de ces bonnes pratiques dans l'administration de médicaments vétérinaires?

M. Boisseau

367. Les données sur les résidus dont tiennent compte l'ensemble des comités, tels que le JECFA, le CMV et autres, proviennent toujours d'études dans le cadre desquelles les médicaments vétérinaires à l'examen ont été administrés aux animaux de boucherie cibles conformément aux conditions d'utilisation approuvées officiellement pour ces médicaments. Les LMR adoptées par le Codex n'ont donc un sens que dans les pays où les bonnes pratiques vétérinaires sont effectivement mises en œuvre. Par ailleurs, il ne serait pas approprié, pour les évaluateurs de risques, d'examiner un dossier dans lequel les médicaments vétérinaires analysés n'auraient pas été utilisés selon les bonnes pratiques vétérinaires. Cela ne serait pas approprié parce que les évaluateurs de risques n'auraient pas la possibilité d'identifier tous les détournements/abus d'utilisation envisageables et d'obtenir les données relatives aux résidus issus de ces mauvais usages. Par ailleurs, cela ne serait pas approprié parce qu'il ne serait pas éthique, si l'on disposait de ces données, qu'elles permettent d'affirmer, pour conclure l'évaluation des risques d'un médicament vétérinaire en examen et compte tenu, le cas échéant, d'une ample marge de sécurité, que l'apport excédentaire de résidus liée à ce détournement/abus d'utilisation n'entraînerait aucun problème de santé publique. Cela encouragerait tous ces détournements/abus d'utilisation. En conséquence, il n'appartient pas aux évaluateurs mais aux gestionnaires de risques de prendre en considération ce problème de bonnes pratiques vétérinaires et de détournements/abus d'utilisation.

M. De Brabander

368. Lorsqu'on procède à une évaluation des risques associés à des médicaments vétérinaires spécifiques, on présume que les bonnes pratiques vétérinaires ont été appliquées. Toutefois, est-il possible de le garantir?

369. Dans le document intitulé "Notions élémentaires concernant les hormones présentes dans la viande bovine" ("*A Primer on Beef Hormones*") en date du 26 février 1999, texte publié par le Groupe spécial interministériel des États-Unis sur les hormones dans la viande bovine (*U.S. Interagency Task Force on Beef Hormones*), on pouvait lire le passage suivant:

"En outre, le dosage prescrit correspond à la concentration qui produit la réponse économique maximale chez l'animal – selon la loi des rendements décroissants – de sorte qu'il n'y a, pour un éleveur, aucune incitation économique à utiliser de nouveaux implants. Il existe aux États-Unis un système de contrôle permettant de s'assurer que les concentrations hormonales des animaux sacrifiés sont normales. Ainsi, aucune incitation, économique ou autre, ne pousse les éleveurs à utiliser les implants à mauvais escient."

370. Toutefois, approximativement à la même date, on pouvait trouver des études concernant l'utilisation simultanée du zilpatérol (puissant bêta-agoniste de troisième génération) et du Revalor (les animaux témoins et les animaux de laboratoire reçoivent des implants de Revalor). Cela illustre le fait que les éleveurs (et les vétérinaires) reçoivent effectivement des incitations économiques qui les encouragent à faire un usage inapproprié des substances anabolisantes (implants ou autres).

371. À ma connaissance, aucune étude de santé publique n'a été réalisée sur l'association entre le zilpatérol et les substances contenues dans le Revalor. Les animaux utilisés pour cette expérience ont-ils été détruits?

372. Compte rendu, Section Ouest, Société américaine de zootechnie, volume 50, 1999 INFLUENCE DU BÊTA-AGONISTE ZILPATÉROL SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE ET LES CARACTÉRISTIQUES DE CARCASSE DE BOUVILLONS À L'EMBOUCHE.

A. Plascencia¹, N. Torrentera¹ et R.A. Zinn²

¹ Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali (Mexique)

² University of California, Davis

RÉSUMÉ: Cent quarante bouvillons croisés (373 kg) ont été utilisés dans une expérience mettant en jeu un dispositif en blocs randomisés (14 enclos, dix bouvillons par enclos) pour évaluer l'influence d'un supplément alimentaire de 6 mg/kg (sur la base de l'aliment en l'état) de zilpatérol, apporté en sus de la ration d'engraissement à base de blé roulé à la vapeur pendant les six dernières semaines de la période d'embouche, sur les performances de croissance et les caractéristiques de carcasse. Le zilpatérol supplémentaire n'a pas eu d'effet ($p > 0,20$) sur l'ingestion de matière sèche (8,55 par rapport à 8,45 kg/jour), mais a amélioré ($p < 0,01$) le gain moyen quotidien (27 pour cent, 1,42 par rapport à 1,94 kg/jour) et l'indice de transformation (28 pour cent, 6,08 par rapport à 4,37). Selon l'ingestion d'énergie nette observée, le gain moyen quotidien des bouvillons n'ayant pas reçu de supplément correspondait à 99 pour cent des prévisions. En revanche, le gain moyen quotidien des bouvillons ayant reçu le supplément de zilpatérol a été de 29 pour cent plus élevé ($p < 0,01$).

Procédure expérimentale:

Cent quarante bouvillons croisés d'un an (373 kg) ont été soumis à un essai d'engraissement de 42 jours. Les bouvillons ont été constitués en blocs en fonction de leur poids et distribués de façon aléatoire, au sein de groupes de poids, dans 14 enclos (dix bouvillons par enclos). Les enclos de 510 mètres carrés étaient dotés d'une zone abritée du soleil de 64 mètres carrés, d'abreuvoirs automatiques et de mangeoires situées le long d'une clôture de 17 mètres. L'essai a commencé le 22 juillet 1997. Les traitements se composaient d'une ration d'engraissement à base de blé en flocons préparés à la vapeur (tableau 1) augmentée d'une quantité de 0 à 6 mg/kg (sur la base de l'aliment en l'état) de zilpatérol (Zilmax, Hoechst Roussel Vet, D.F., Mexique). Au début de l'essai un implant de

Revalor (Hoechst Roussel Vet, D.F., Mexique) a été appliqué aux bouvillons. Les animaux pouvaient accéder aux rations expérimentales à volonté.

46. Dans quelle mesure les risques découlant des détournements ou des abus d'utilisation ont-ils été estimés par le JECFA dans son évaluation des hormones en cause? S'agissant des trois hormones de synthèse en cause, quelle importance ont les bonnes pratiques vétérinaires pour l'établissement des LMR par le JECFA?

M. Boisseau

373. Ma réponse à la question n° 45, ci-dessus, s'applique également à la présente question. Cette réponse porte également sur les trois hormones de synthèse qui ne soulèvent aucun problème particulier dans ce domaine.

M. Boobis

Évaluation par le JECFA des risques liés aux détournements ou aux abus d'utilisation

374. Lorsqu'une évaluation des risques permet de conclure qu'il est approprié d'établir une DJA pour protéger la santé publique (par exemple si les effets critiques présentent un seuil), les niveaux probables d'exposition ne sont pas pris en compte. La DJA est fondée entièrement sur les effets toxicologiques et les autres effets biologiques pertinents de la substance, effets qui déterminent le point de départ (en général la DSEIO), et le facteur d'incertitude (ou de sécurité) appropriés. Le facteur d'incertitude adopté doit tenir compte de toute extrapolation interspécifique, des différences entre les individus, des sous-populations sensibles, de l'absence de DSEIO, et de toute lacune non critique de la base de données (voir ma réponse à la question n° 8, ci-dessus). Lors de l'établissement de LMR (pertinentes ici uniquement pour les trois hormones de synthèse), les études appropriées sont celles qui portent sur les résidus obtenus après un usage normal des hormones, c'est-à-dire conformément aux bonnes pratiques vétérinaires. Toutes les agences et organisations qui interviennent dans ces activités partagent cette politique (*CEE, 1990; EMEA, 2005; FAO, 2006*) (voir ma réponse à la question n° 62, partie intitulée: "Implants multiples, doses multiples"). L'étape de l'évaluation des risques au cours de laquelle les détournements ou les abus d'utilisation sont importants est celle de la caractérisation des risques, qui consiste à comparer l'exposition potentielle à la DJA. En conséquence, bien que l'apport journalier maximal théorique soit estimé dans le cadre d'un usage des hormones obéissant aux bonnes pratiques vétérinaires, il est concevable d'envisager d'autres scénarios d'exposition dans lesquels les hormones seraient utilisées à mauvais escient ou de façon abusive. Au cas où l'exposition dépasserait la DJA, les implications toxicologiques de ce dépassement dépendraient d'un certain nombre de facteurs (voir la réponse à la question n° 62, ci-dessus). Ces facteurs sont les suivants:

- la probabilité d'infractions ou d'utilisation non conforme au résumé des caractéristiques du produit;
- les concentrations de résidus présentes après un tel détournement ou abus d'utilisation;
- la mesure dans laquelle l'exposition à ces résidus entraînerait un dépassement de la DJA;
- la fréquence ou la durée probable de dépassement de la DJA;
- les conséquences à court terme du dépassement de la DJA;
- la sévérité du critère d'évaluation sur lequel est fondée la DJA;

- la pente de la courbe dose-réponse correspondant au critère d'évaluation sur lequel est fondée la DJA.

375. Le JECFA a bien tenu compte des détournements d'utilisation du zéranol lors de l'évaluation de ce produit en 1988 (*JECFA, 1988b*) et examiné les effets de doses allant jusqu'à 20 fois les doses approuvées d'acétate de mélangestrol sur les concentrations de résidus (*JECFA, 2000a*). Le Comité ne semble pas avoir analysé explicitement les détournements ou les abus d'utilisation de la trenbolone. Les répercussions des détournements et des abus d'utilisation de ces hormones sur la santé des personnes sont analysées plus bas (question n° 62). Ces détournements/abus d'utilisation n'auraient eu aucune répercussion sur les LMR recommandées. Le Codex aurait dû décider de la manière de traiter les éventuels dépassements de DJA résultant de détournements ou d'abus d'utilisation, dès lors que des décisions de gestion des risques étaient en jeu.

CEE (1990). Règlement du Conseil (CEE) n° 2377/90 du 26 juin 1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. JO L 224 du 18/08/1990, pages 1 à 8.

FAO (2006). Updating the Principles and Methods of Risk Assessment: MRLs for Pesticides and Veterinary Drugs, Rome, Italie
(http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/DOWNLOAD/bilthoven_2005.pdf).

JECFA (1988b). Les résidus des médicaments vétérinaires dans la nourriture et les animaux, volume 41/1, FAO, Rome, Italie.

M. De Brabander

376. À ma connaissance, le JECFA n'a pas évalué (ni rejeté) les risques découlant d'un détournement ou d'un abus d'utilisation dans son évaluation des hormones en cause. Comme l'illustre l'exemple des expériences faisant intervenir le zilpatérol (question n° 45), les bonnes pratiques vétérinaires sont très importantes pour l'établissement des LMR par le JECFA. En cas d'utilisation d'autres substances (comme le zilpatérol, le ZMA ou autres) ou d'un usage inapproprié des implants, le principe de l'établissement de limites maximales de résidus par le JECFA est assurément dépourvu de validité.

- 47. Les différences entre les bonnes pratiques vétérinaires appliquées dans les Communautés européennes, aux États-Unis et au Canada sont-elles importantes et jusqu'à quel point? L'évaluation des risques effectuée par les Communautés européennes tient-elle compte des mécanismes de contrôle pertinents en vigueur aux États-Unis et/ou au Canada relativement aux bonnes pratiques vétérinaires? Dans l'affirmative, quelles en sont les conclusions?**

M. Boisseau

377. J'ai indiqué dans mon message électronique du 26 avril 2006 que je ne pensais pas être en mesure de répondre à cette question. Néanmoins, en ce qui concerne les activateurs de croissance, il me semble que le principal problème, pour les Communautés européennes, est que ces produits sont en vente libre, sans aucune prescription vétérinaire, aux États-Unis et au Canada.

378. Comme cela a déjà été mentionné, dans la mesure où les Communautés européennes n'ont effectué aucune évaluation quantitative des risques liés aux activateurs de croissance, il n'est pas possible d'affirmer qu'elles ont tenu compte des mécanismes de contrôle pertinents en vigueur aux États-Unis et/ou au Canada, relativement aux bonnes pratiques vétérinaires.

M. De Brabander

379. L'interprétation des règles de bonnes pratiques vétérinaires peut varier selon les pays. S'agissant du différend relatif aux hormones, la grande différence est évidemment qu'en Europe l'utilisation d'hormones en tant qu'aides à la production n'est pas autorisée (et donc pas envisagée dans les bonnes pratiques vétérinaires).

380. Quant aux mécanismes de contrôle pertinents en vigueur aux États-Unis et/ou au Canada relativement aux bonnes pratiques vétérinaires, il faut savoir qu'un mécanisme de contrôle, quel qu'il soit, fondé uniquement sur des audits et des documents administratifs n'empêchera pas les agriculteurs soit d'utiliser de façon inappropriée les aides à la production officiellement autorisées, soit d'utiliser d'autres activateurs de croissance illégaux, facilement disponibles aux États-Unis et au Canada via Internet.

381. Par exemple: le 21 avril 2006 (donc très récemment), Santé Canada a averti les consommateurs de ne pas utiliser de produits non autorisés contenant des stéroïdes anabolisants (avis 2006-17). http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/advisories-avis/2006/2006_17_f.html

382. OTTAWA – En raison de risques potentiels graves pour la santé, notamment des troubles hépatiques et des problèmes cardiaques, Santé Canada avise les citoyens d'éviter de consommer cinq produits contenant des stéroïdes anabolisants illégaux. Ces cinq produits sont les suivants: Anabolic Xtreme Superdrol, Méthyl-1-P, Ergomax LMG, Prostanazol et FiniGenX Magnum Liquid. Leur vente est interdite au Canada comme médicaments ou produits naturels. Les Canadiens qui utilisent ces produits ou tout autre supplément contenant ces stéroïdes anabolisants doivent cesser immédiatement et consulter un professionnel de la santé.

383. Tous ces produits, principalement destinés au culturisme peut-être, mais également utilisables pour engraisser les bovins, sont disponibles via Internet.

384. Existe-t-il des méthodes et des laboratoires susceptibles de contrôler l'usage abusif de ces substances?

385. Il est à noter que Santé Canada admet (avec justesse) le danger de ces produits.

48. Dans quelle mesure les preuves scientifiques mentionnées par les Communautés européennes évaluent-elles les risques que présentent pour la santé des personnes les résidus provenant d'implants de l'une ou l'autre des six hormones qui ont été mal placés ou mal administrés, c'est-à-dire administrés de façon autre que les indications données sur l'étiquette du fabricant ou contraire aux bonnes pratiques vétérinaires? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Quels sont les dangers potentiels, s'il en est, de l'utilisation de quantités importantes, ou de doses supérieures aux doses recommandées, de l'une quelconque des six hormones en cause pour la santé des personnes?

M. Boisseau

386. Une fois de plus, la réponse donnée à la question n° 45 est applicable à cette question. Le résultat d'une évaluation des risques liés à des résidus de médicaments vétérinaires, notamment des six hormones en cause, n'est pas applicable en cas de détournement/abus d'utilisation, par exemple en cas d'application de dosages supérieurs aux niveaux approuvés, d'utilisation d'associations non autorisées, d'administrations répétées du produit, d'application par injection intramusculaire profonde au lieu de l'implantation de pastilles, etc. À cet égard, les Communautés européennes ont raison d'affirmer que l'exposition des consommateurs peut être radicalement différente en cas de détournements/abus

d'utilisation de ce type. Encore une fois, cette situation n'est pas propre aux hormones puisqu'elle s'applique à l'ensemble des médicaments vétérinaires qui ont déjà été évalués par le JECFA, l'Union européenne, les États-Unis, et dans d'autres parties du monde.

387. Cela dit, étant donné que les Communautés européennes n'ont pas effectué d'évaluation quantitative des risques liés aux activateurs de croissance, on ne peut pas affirmer que les preuves scientifiques qu'elles mentionnent apportent une évaluation des risques liés aux résidus issus de ces détournements/abus d'utilisation pour la santé des personnes.

388. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

389. Les DJA sont établies pour empêcher que les effets toxicologiques/physiologiques associés aux DSEIO correspondantes ne se produisent. En cas de détournements/abus d'utilisation, l'exposition des consommateurs aux résidus est susceptible d'augmenter à un point tel que l'ingestion de ces résidus peut devenir supérieure à la DJA et que les effets toxicologiques/physiologiques que l'on voulait éviter peuvent se produire.

M. Boobis

Évaluation du risque que présente pour la santé des personnes un détournement ou un abus d'utilisation des hormones, dans les preuves scientifiques mentionnées par les CE

390. Les preuves proprement dites sont analysées en détail à la question n° 62, ci-dessous. Aucune tentative n'a été faite pour évaluer les risques liés à l'exposition résultant d'un détournement ou d'un abus d'utilisation, que ce soit dans les articles cités ou dans l'évaluation de ces études réalisée par le CSMVSP (2002). De fait, le CSMVSP (2002) s'est limité à faire remarquer qu'"en conséquence, ces données doivent être prises en compte dans toute procédure d'évaluation quantitative de l'exposition", sans mettre en œuvre une telle procédure. Toutefois, il convient de souligner que les CE avaient auparavant adopté le point de vue selon lequel il n'existait pas de seuil pour certains des effets critiques des hormones et qu'il n'était dès lors pas approprié d'effectuer une évaluation quantitative des risques (*CSMVSP, 1999*). L'opinion du CSMVSP n'a pas changé sur ce point dans l'évaluation des nouvelles données, en 2002.

391. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

392. À mon avis, les dangers potentiels découlant de l'utilisation en grande quantité des six hormones en cause sont ceux qui dépendent de leur activité endocrine, et ils comprennent le cancer dans les tissus sensibles aux hormones. Toutefois, j'insiste sur le fait qu'il s'agit là des dangers potentiels que présentent ces substances. Le risque potentiel, c'est-à-dire la probabilité que des effets se produisent, dépend de plusieurs facteurs dont, notamment, l'intensité et la durée de l'exposition, ainsi que le stade du cycle de vie de l'individu exposé. Compte tenu de la fourchette d'expositions à laquelle on peut s'attendre du fait de détournements ou d'abus d'utilisation, les risques sont vraisemblablement très faibles (voir la question n° 62).

M. De Brabander

393. La réponse à cette question a déjà été donnée à propos de la question n° 47. Une administration incorrecte ou un mauvais placement des implants peuvent être dangereux pour la santé des personnes. Il faut ajouter, comme cela a déjà été mentionné, que les dangers potentiels pour la santé humaine ne sont pas le seul facteur dont il faut tenir compte dans le débat sur l'utilisation des hormones pour stimuler la production. Il faut également considérer:

- le bien-être des animaux: que sentent les animaux lorsque les implants sont incorrectement administrés ou placés?
- l'environnement: l'excrétion d'un excès d'hormones à la suite d'une administration inappropriée ou d'un mauvais placement des implants trouble l'équilibre hormonal de l'eau de surface.
- la transformation des hormones: les réactions enzymatiques sont des réactions équilibrées (l'enzyme joue seulement un rôle de catalyseur de la réaction); l'excès d'hormones peut orienter une réaction enzymatique dans une nouvelle direction (exemple de la formation de boldénone à partir de la testostérone). Ce phénomène est encore mal connu.

394. Il est difficile de savoir si ma réponse aurait été différente au moment où la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003. Le fait est que ma réponse actuelle tient compte du nombre de plus en plus élevé de données scientifiques qui soutiennent l'interdiction d'utiliser les hormones. Les profits économiques découlant de l'utilisation de ces produits ne contrebalancent pas le danger potentiel dans tous ses aspects.

49. Quels méthodes d'analyse ou autres moyens techniques de détection des résidus existe-t-il pour s'assurer que les six hormones en cause ont été utilisées à des fins anabolisantes conformément aux bonnes pratiques d'élevage et/ou aux bonnes pratiques vétérinaires? Quels moyens existe-t-il pour s'assurer que les éleveurs utilisent les six hormones en cause à des fins anabolisantes conformément aux bonnes pratiques d'élevage et/ou aux bonnes pratiques vétérinaires?

M. De Brabander

395. Un grand nombre de méthodes d'analyse permettent de contrôler l'utilisation à des fins anabolisantes des six hormones en cause. De nouvelles méthodes sont régulièrement présentées lors de conférences internationales et dans la documentation librement accessible. En Europe, un système de laboratoires communautaires et nationaux de référence a été installé afin que les analyses réalisées par les laboratoires de campagne se maintiennent au niveau des normes en vigueur. Je pourrais, le cas échéant, fournir au Groupe spécial la liste d'un grand nombre de méthodes, mais je ne pense pas que cela soit l'objet de la question.

396. De nombreux outils sont disponibles pour contrôler l'utilisation des six hormones en cause à des fins anabolisantes par les éleveurs. Par exemple:

- la recherche d'hormones légales et illégales dans l'urine; les fèces, les poils, les aliments pour animaux et l'eau potable;
- l'inspection de l'exploitation pour y rechercher des substances légales ou illégales, quelles que soient leurs formules;
- le contrôle du gain de poids des animaux de l'exploitation par comparaison avec les gains de poids normaux;
- l'inspection du troupeau visant à détecter certains symptômes (hypothyroïdie, par exemple);
- l'inspection des animaux au moment du sacrifice (pour détecter des sites d'injection par exemple).

- 50. S'agissant de l'utilisation des hormones en cause à des fins anabolisantes, les Communautés européennes disposent-elles d'autres mesures (différentes de l'interdiction totale) qui leur permettraient de se protéger contre les risques découlant d'un détournement d'utilisation ou de l'inobservation des bonnes pratiques vétérinaires? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi?**

M. Boisseau

397. J'ai indiqué dans mon message électronique du 26 avril 2006 que je ne pensais pas être en mesure de répondre à cette question.

398. Néanmoins, je voudrais dire que, dans un pays donné, la mise en œuvre de bonnes pratiques vétérinaires et l'élimination des détournements/abus d'utilisation de médicaments vétérinaires doivent être placées sous la responsabilité des autorités officielles du pays, lesquelles devraient être à même de démontrer que 1) les médicaments vétérinaires sont effectivement utilisés en conformité avec les bonnes pratiques vétérinaires, 2) les médicaments vétérinaires associés à des problèmes de santé publique sensibles sont utilisés sous contrôle vétérinaire, 3) les contrôles officiels de la mise en œuvre de ces bonnes pratiques vétérinaires, notamment la surveillance des résidus, sont efficaces. Au cas où il peut être établi qu'un pays exportateur n'est pas en mesure de garantir que les médicaments vétérinaires sont effectivement utilisés en conformité avec les bonnes pratiques vétérinaires, tout pays importateur devrait être libre de prendre les mesures appropriées susceptibles de protéger la santé de sa population. L'interdiction est l'ultime mesure possible si toutes les autres options échouent ou se révèlent inefficaces. Dans le cas des activateurs de croissance hormonaux, en raison de la tentation, pour les éleveurs, d'utiliser ces produits d'une manière autre que celles qui sont approuvées afin d'obtenir un avantage économique additionnel, un accord devrait être conclu entre le pays exportateur et le pays importateur sur la teneur des bonnes pratiques vétérinaires en ce qui a trait à l'utilisation de ces produits. Ces bonnes pratiques pourraient mettre en jeu une surveillance vétérinaire ou des prescriptions vétérinaires. Un mécanisme approprié de surveillance des résidus pourrait également être mis en place. En outre, si cela est autorisé par la loi et techniquement réalisable, il pourrait être envisagé de fournir des renseignements appropriés aux consommateurs du pays importateur grâce à un étiquetage clair. En effet, il existe actuellement une demande croissante des consommateurs pour un traçage des aliments au moyen d'un étiquetage informatif, même en ce qui concerne les additifs alimentaires autorisés.

399. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. De Brabander

400. À ma connaissance, les Communautés européennes ne disposent pas de mesures autres qu'une interdiction totale qui leur permettraient de se protéger contre les risques découlant d'un détournement d'utilisation et de l'inobservation des bonnes pratiques vétérinaires pour ce qui concerne l'usage des hormones en cause à des fins anabolisantes.

401. Ma réponse est aujourd'hui plus ferme que celle que j'aurais donnée au moment de l'adoption de la directive des CE, en septembre 2003.

- 51. La documentation présentée par les Communautés européennes au sujet du détournement ou de l'abus d'utilisation des hormones en cause aux États-Unis et au Canada met-elle en doute l'éventuelle applicabilité des normes du Codex aux importations de viande de bovins traités aux hormones en provenance de ces pays?**

M. Boisseau

402. Les réponses données aux questions n° 45 et 48 s'appliquent également à cette question.

M. De Brabander

403. La documentation présentée par les Communautés européennes au sujet du détournement ou de l'abus d'utilisation des hormones en cause aux États-Unis et au Canada met effectivement en doute l'éventuelle applicabilité des normes du Codex aux importations de viande de bovins traités aux hormones en provenance de ces pays. Depuis qu'ont été effectuées les expériences "anciennes" sur lesquelles sont fondées les LMR (pour les trois hormones de synthèse) et les DJA (pour les trois hormones naturelles), les connaissances scientifiques relatives aux résidus, à leurs liens avec le bien-être des animaux et à leur incidence sur l'environnement se sont considérablement élargies. Ces aspects, déjà examinés dans les réponses à d'autres questions, indiquent clairement que les avantages économiques obtenus du fait de l'utilisation d'hormones pour stimuler la production ne contrebalancent pas les dangers présents et potentiels. En outre, la plupart des consommateurs ne sont pas préparés à prendre ce risque.

404. De nouveaux résultats dans le domaine des résidus sont publiés régulièrement. Les constatations de notre propre laboratoire sur les asticots de *Lucilia Sericata*, une mouche à viande, en sont un exemple. Nous avons pu démontrer que les asticots de *Lucilia Sericata* sont capables de convertir la testostérone en boldénone (2,2 pour cent), en boldione (ou ADD, 1 pour cent) et en AED (15 pour cent), lorsqu'ils sont exposés à l'hormone.

Boldenone formation by maggots of Lucilia Sericata K. Verheyden, H. Noppe, J. Vercruyss, E. Claerebout, V. Mortier, C.R. Janssen, H.F. De Brabander Anal. Chim Acta 2006, submitted.

405. Il s'agit là seulement d'un exemple des nombreuses réactions, encore inconnues, qui peuvent se produire, et d'une illustration du danger que représente l'introduction de substances susceptibles de troubler l'équilibre des réactions enzymatiques dans le corps des animaux ou des êtres humains (s'agissant dans ce cas de l'équilibre hormonal). Je doute sérieusement que dans toutes les études "anciennes" qui ont mené à l'établissement de DJA et de LMR pour ces substances, ces réactions et des réactions analogues aient été prises en compte et que, par exemple, la boldénone et l'ADD aient été mesurés.

[Pour les questions concernant les bonnes pratiques vétérinaires, voir les Avis du CSMVSP dans les pièces US-1, 4 et 17, les paragraphes 125 à 127 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), les paragraphes 107 à 109 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada), le paragraphe 154 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, les pièces EC-12, 67, 68, 69, 70, 73, 96, 102, 103, le paragraphe 32 et les paragraphes 54 à 65 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, le paragraphe 75 de la première présentation des États-Unis, les paragraphes 107 à 111 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation, la page 40 de la pièce CDA-27.]

g) Autres

52. L'évaluation des risques effectuée par les Communautés européennes, ou toute autre documentation scientifique mentionnée par les Communautés européennes, démontre-t-elle que la consommation de viande de bovins traités au moyen de l'une ou l'autre des six hormones en litige à des fins anabolisantes pourrait avoir des effets négatifs sur la santé des personnes? Dans l'affirmative, pourquoi? Dans la négative, quelle sorte de preuve serait nécessaire pour démontrer que ces effets négatifs

pourraient se produire? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive a été adoptée, en septembre 2003?

M. Boisseau

406. Comme je l'ai déjà indiqué dans ma réponse à la question n° 16, les Communautés européennes n'ont pas effectué, à proprement parler, une évaluation des risques, mais elles ont fourni des données scientifiques et des hypothèses à l'appui de leurs préoccupations concernant la sécurité de ces six hormones pour la santé des personnes. Les Communautés européennes ont donc conclu qu'étant donné le potentiel génotoxique de l'œstradiol-17 β , il n'était possible d'accepter aucun apport excédentaire de résidus de cette hormone dans la mesure où ces résidus seraient susceptibles de provoquer un problème sanitaire pour les consommateurs; elles ont également conclu que les données disponibles pour les cinq autres hormones n'étaient pas suffisantes pour effectuer une évaluation des risques. S'agissant des trois hormones naturelles, les Communautés européennes auraient dû intégrer dans leur évaluation des risques l'exposition des consommateurs à ces mêmes hormones, provoquée par la consommation de résidus hormonaux issus d'animaux non traités aux activateurs de croissance hormonaux, et par la production quotidienne de ces hormones par l'organisme humain. À mon avis donc, les Communautés européennes n'ont pas démontré que la consommation de viande de bovins traités, à des fins anabolisantes, au moyen de l'une ou l'autre des six hormones en litige pourrait avoir des effets négatifs sur la santé des personnes. Pour démontrer que ces effets négatifs sont susceptibles de se produire il serait nécessaire d'apporter des preuves telles que: 1) des données toxicologiques indiquant que les valeurs des DJA établies par le JECFA ne sont pas suffisamment prudentes; 2) des données sur les résidus présents chez les bovins traités/non traités et sur la production journalière d'hormones chez les individus sensibles indiquant que l'apport de résidus hormonaux associé à la consommation de viande de bovins traités est tel que les DJA fixées seraient dépassées en cas d'utilisation d'activateurs de croissance.

407. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Risques pour l'homme découlant de la consommation de viande d'animaux traités au moyen d'hormones anabolisantes

408. Cette question est complexe. Une évaluation de risques ne va pas sans une certaine interprétation des données. Il faut, par exemple, estimer si un effet est lié à un composé, si un effet est indésirable, s'il existe un seuil et quelle en est alors la valeur, si les effets observés *in vitro* apparaissent *in vivo*, si les associations décrites par les études épidémiologiques peuvent faire l'objet de distorsions ou se voir contaminées par des facteurs de confusion (*PISC: EHC 70, 1987 et EHC 104, 1990; OMS, 1996 et 2001*). En conséquence, le fait qu'une évaluation des risques démontre ou non que la consommation de viande de bovins traités à l'aide de l'une ou l'autre des six hormones en litige à des fins anabolisantes peut avoir des effets négatifs sur la santé des personnes dépend des auteurs de cette évaluation. Quant à savoir si les informations scientifiques sur lesquelles cette évaluation des risques est fondée, ou toute autre documentation mentionnée par les CE, démontrent cette possibilité, cela est une autre affaire. À mon avis, aucune information fournie par les CE ne démontre que l'une quelconque des six hormones présentes dans la viande des bovins sur lesquels elles ont été utilisées à des fins anabolisantes est susceptible de produire des effets négatifs sur l'homme aux concentrations auxquelles les consommateurs de cette viande seraient exposés. Les études de génotoxicité n'apportent aucune preuve convaincante d'éventuels dommages chez les consommateurs. Le poids de la preuve indique que les hormones ne sont pas génotoxiques *in vivo*, même à des doses très supérieures à celles qui subsisteraient dans la viande d'animaux traités. Les effets cancérogènes observés sont entièrement compatibles avec un mode d'action hormonal qui

présente un seuil très supérieur à l'apport découlant de la consommation de viande d'animaux traités. Les autres effets des hormones, observés sur des animaux de laboratoire ou des sujets exposés, se produisent à des doses beaucoup plus élevées que les doses auxquelles la viande de bovins traités exposerait les consommateurs. À ce titre, il ne devrait y avoir aucun risque pour que de telles expositions provoquent ce type d'effets sur l'homme. La possibilité d'effets endocriniens dus à de faibles expositions aux hormones, par exemple à l'œstradiol, fait l'objet de nombreux débats. Les rapports les plus importants sont toutefois unanimes à conclure que, malgré des lacunes statistiques, rien ne prouve qu'un faible niveau d'exposition occasionne des effets néfastes pour l'homme.

409. "En soi, l'analyse des données relatives à l'homme, bien qu'elle suscite des préoccupations, n'a apporté à ce jour aucune preuve solide de liens de causalité entre l'existence d'un faible niveau (niveaux mesurés dans la population générale) d'exposition à des modulateurs du système endocrinien et des résultats défavorables pour la santé." (*Damstra et al., 2002*)

Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., et Van der Kraak, G. (2002). Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. Publication n° WHO/PCS/EDC/02.2 de l'OMS. Organisation mondiale de la santé, Genève, Suisse.

410. "Toutefois, il est relativement rassurant de voir qu'après les recherches considérables menées au cours des dix dernières années, aucune constatation concluante ne permet d'affirmer que de faibles niveaux d'exposition environnementale aux modulateurs endocriniens ont un caractère pathogène." (*Miyamoto and Burger, 2003*)

411. La question relative au type de preuve nécessaire pour démontrer que ces effets négatifs pourraient se produire présuppose qu'ils sont démontrables. Pour démontrer que de tels effets surviennent ou non, il serait nécessaire de mener des études sur l'exposition systémique humaine résultant de la consommation de viande de bovins traités. De telles études exigeraient des méthodes d'analyse très sensibles, capables d'établir, en premier lieu, s'il se produit une quelconque modification des concentrations d'hormones circulantes. Des études devraient être réalisées sur des sous-populations pertinentes, de mâles prépubères par exemple. Des enquêtes épidémiologiques dans lesquelles l'exposition et le résultat seraient soigneusement évalués seraient également nécessaires. Il convient toutefois de souligner que, considérant les informations disponibles, j'estime que le risque d'effets indésirables pour le consommateur de viande de bovins traités est minimal.

412. Ma réponse à cette question aurait été la même lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Guttenplan

413. Les calculs présentés (communication des CE présentée à titre de réfutation, paragraphe 122) semblent indiquer que même avec de faibles pourcentages de biodisponibilité des œstrogènes, les concentrations présentes dans la viande pourraient aboutir à des œstrogènes biodisponibles dépassant la production journalière d'œstradiol chez les enfants prépubères. Bien que les États-Unis et le Canada contestent la précision du test employé à l'origine pour mesurer les faibles concentrations d'œstrogènes trouvées chez les enfants, des rapports récents (Wang, S., Paris, F., Sultan, C. S., Song, R. X., Demers, L. M., Sundaram, B., Settlege, J., Ohorodnik, S. et Santen, R. J. *Recombinant cell ultrasensitive bioassay for measurement of estrogens in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab*, 90: 1407-1413, 2005 et références citées) indiquent que les concentrations utilisées par les CE, qui ont été mesurées récemment, sont exactes. En outre, les concentrations chez les femmes postménopausiques sont également très faibles. Cependant, d'autres approximations sont utilisées dans ce calcul. Pour les enfants prépubères, malgré la faible biodisponibilité des œstrogènes et leur concentration réduite dans les viandes, il semble possible que les concentrations ingérées et le taux de production journalière soient du même ordre de grandeur, c'est-à-dire supérieurs aux DJA

définies par la FDA, ce qui semble indiquer un certain risque pour cette population. Si l'œstradiol provoque des effets génotoxiques chez les enfants, ces effets risquent de se manifester pendant toute leur vie, car les mutations dues à des dommages causés à l'ADN sont permanentes. Il semble que les méthodes d'analyse plus précises actuellement disponibles pourraient être utilisées pour mesurer l'effet de la consommation de viande de bœuf traité aux hormones sur les concentrations sanguines d'œstrogènes des enfants et des femmes postménopausiques. Si elles étaient réalisables, ces expériences seraient importantes pour corroborer ou réfuter les arguments des CE.

414. La justesse du test de mesure des taux sériques d'œstrogènes n'ayant pas encore été confirmée en 2003, ma réponse n'aurait pas été aussi assurée à l'époque.

53. Veuillez faire des observations sur la déclaration des Communautés européennes selon laquelle la progestérone et la testostérone, hormones naturelles, sont utilisées uniquement en association avec l'œstradiol-17 β ou avec d'autres œstrogènes dans les produits commerciaux. L'utilisation systématique de ces hormones mélangées à des hormones de synthèse serait-elle susceptible d'avoir des répercussions sur la manière dont les expériences scientifiques et les évaluations du risque devraient être menées? Dans l'affirmative, la documentation scientifique mentionnée par les Communautés européennes ou les rapports pertinents du JECFA tiennent-ils compte des éventuels effets synergiques de tels mélanges sur la santé des personnes? [voir les sections 4.2 et 4.3 de l'Avis du CSMVSP de 2002, pièce US-1]

M. Boisseau

415. Il est vrai que, comme cela est écrit à la section 4.3 de l'Avis du CSMVSP de 2002, les données relatives à la génotoxicité des hormones sont obtenues grâce à des tests menés uniquement sur chacune des substances, comme cela a toujours été le cas pour les études de toxicité dont il est tenu compte, en tous lieux, dans l'évaluation des risques des résidus de médicaments vétérinaires. Étant donné qu'il a été établi que la progestérone et la testostérone ne sont pas génotoxiques, il est peu probable que des essais sur des mélanges de progestérone ou de testostérone et d'œstradiol-17 β permettent de détecter des effets synergiques différents des effets obtenus séparément pour chaque substance.

M. Guttenplan

416. Selon les données présentées, il est vrai que la progestérone et la testostérone sont utilisées uniquement en association avec l'œstradiol-17 β ou avec d'autres œstrogènes dans les produits commerciaux (sections 4.2 et 4.3 de l'Avis du CSMVSP de 2002).

417. En principe, l'utilisation de mélanges complique les évaluations du risque et les expériences scientifiques dès lors qu'elle rend nécessaire l'évaluation ou l'étude de chaque composant isolément et en association. Cette opération est d'une grande complexité car les effets de chaque agent peuvent s'ajouter, s'inhiber ou former des synergies. Ils peuvent aussi être inexistantes. Les preuves présentées démontrent que les œstrogènes constituent, de loin, le facteur de risque le plus important et, vu le niveau insignifiant des concentrations de l'ensemble des hormones dans la viande de bœuf, il semble peu probable que celles-ci aient une incidence sur la puissance de ces œstrogènes. Toutefois, aucune expérience ne paraît avoir été menée sur les effets des mélanges, de sorte qu'une certaine incertitude subsiste à ce sujet.

54. Quel est le niveau acceptable de risque indiqué dans les normes du Codex pour les cinq hormones en cause? Est-il comparable à l'objectif fixé par les Communautés européennes selon lequel il ne doit exister "aucun risque lié à une exposition à des résidus additionnels superflus présents dans la viande d'animaux traités aux hormones à

des fins anabolisantes"? [voir le paragraphe 149 de la communication présentée par les CE à titre de réfutation (affaire États-Unis)]

M. Boisseau

418. Le niveau acceptable de risque indiqué dans les normes du Codex pour les cinq hormones en cause, comme pour toutes les autres substances déjà évaluées, est exprimé par les DJA établies pour ces substances. Selon le principe de la procédure d'évaluation des risques adoptée par le Codex et mise en œuvre par le JECFA, la DJA représente la quantité de résidus qui peut être absorbée quotidiennement par les consommateurs pendant toute leur vie sans occasionner de risque pour la santé. Cette approche est évidemment différente de l'objectif fixé par les Communautés européennes selon lequel il ne doit exister "aucun risque lié à une exposition à des résidus additionnels superflus présents dans la viande d'animaux traités aux hormones à des fins anabolisantes", ce qui signifie que, pour que cet objectif soit atteint, ces cinq hormones ne devraient pas être utilisées. Cette déclaration s'appuie probablement sur l'idée selon laquelle les activateurs de croissance soulèvent un problème particulier en ce qui concerne l'évaluation du rapport avantage/risque associé à leur utilisation. Dans le cas des médicaments vétérinaires utilisés à des fins thérapeutiques, le risque est exprimé en termes de santé humaine et les avantages en termes de santé animale, ce qui peut être considéré comme une position éthique. Pour les activateurs de croissance, l'avantage est "uniquement" économique, ce qui explique pourquoi les Communautés européennes ne peuvent accepter aucun risque, même théorique, associé à un usage de ces activateurs de croissance dont le seul objectif est d'augmenter des profits économiques.

M. Boobis

Niveau de risque acceptable

419. Les normes du Codex concernant les hormones en cause font état d'une "exposition quotidienne pendant toute une vie sans risque appréciable" (définition de la DJA par l'OMS, 1996, 2001 et par le CMV, 2005). Cette définition est fondée sur la conclusion du JECFA selon laquelle tous les effets potentiellement néfastes des hormones présentent des seuils. À l'aide d'une DSEIO, ou d'un substitut comme la DMEIO si cela est nécessaire, et de facteurs d'incertitude (ou de sécurité) appropriés, un niveau d'exposition est défini, en deçà duquel le risque est considéré comme minimal; ce niveau est la DJA (voir mes réponses aux questions n° 7 à 12, ci-dessus). Le niveau du risque résiduel n'a jamais été quantifié, mais il est jugé acceptable pour la société. La norme du Codex est équivalente à l'objectif établi par les CE selon lequel il ne doit exister "aucun risque lié à une exposition à des résidus additionnels superflus présents dans la viande d'animaux traités aux hormones à des fins anabolisantes" et, de fait, cette norme est identique à la définition de la DJA donnée par le CMV (2005). L'explication tient au fait que les CE utilisent le même paradigme d'évaluation des risques employé par le JECFA pour fixer les DJA et, donc, que si les données sont interprétées de la même manière, il ne devrait pas y avoir de différence quant au niveau de risque détecté par l'évaluation. D'un point de vue scientifique, la différence découle de variations dans la manière d'interpréter les données et, en l'espèce, de la conclusion concernant l'existence ou l'absence d'un seuil pour les effets jugés préoccupants.

420. Toutefois, il est indispensable de mettre l'accent sur la distinction entre l'évaluation et la gestion des risques (voir ma réponse à la question n° 5, ci-dessus). Le fait d'invoquer ou non le principe de précaution est une décision qui relève de la gestion des risques. Une analyse détaillée de ces aspects dépasserait la portée de mes réponses. L'un des éléments sur lesquels repose une décision de gestion des risques est le résultat de l'évaluation des risques, une partie de cette évaluation consistant à estimer l'incertitude associée au résultat. La gestion des risques doit mettre en balance l'évaluation des risques et un certain nombre d'autres facteurs pour parvenir à une décision. En

conséquence, le problème, en partie, n'est pas tant de savoir quel est le niveau de risque acceptable, mais de déterminer le niveau d'inquiétude que susciterait une estimation inexacte du risque.

M. Guttenplan

421. Le Codex a fixé des DJA pour les hormones (à l'exception du MGA que je n'ai pas pu trouver), mais a déclaré qu'il n'était pas nécessaire d'établir des LMR dès lors qu'il était peu vraisemblable que la viande d'animaux élevés conformément aux bonnes pratiques zootechniques constitue une menace pour la santé des personnes (pièce jointe n° 22 du Canada, liste des normes du Codex). Cela ne concorde pas avec l'objectif déclaré par les CE qui soutiennent que, pour les œstrogènes et éventuellement les autres hormones, il existe un risque potentiel. La question du niveau de ce risque n'a pas été abordée par les CE.

55. Les avis des Communautés européennes et les autres documents scientifiques mentionnés par les Communautés européennes évaluent-ils la mesure dans laquelle les résidus d'hormones anabolisantes présents dans la viande contribuent à ce qu'elles appellent les "risques additionnels résultant d'expositions cumulées de l'homme à des risques multiples, s'ajoutant à la production endogène de certaines de ces hormones par les animaux et les êtres humains"? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir le paragraphe 151 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, les paragraphes 43 et 44 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation, les paragraphes 83 à 85 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]

M. Boisseau

422. Les Communautés européennes n'ont pas évalué de façon quantitative la mesure dans laquelle les résidus d'hormones anabolisantes présents dans la viande constituent des risques additionnels résultant d'expositions cumulées de l'homme à des risques multiples, s'ajoutant à la production endogène de certaines de ces hormones par les animaux et les êtres humains. D'ailleurs, les Communautés européennes reconnaissent ce fait lorsqu'elles affirment, au paragraphe 151 de leur réponse aux questions du Groupe spécial que "ce qu'il faut, ce n'est pas tant comparer (si cela était seulement possible!) les deux situations (résidus d'hormones présents dans la viande de bovins non traités aux hormones anabolisantes et résidus présents dans la viande traitée), puis essayer de quantifier la mesure dans laquelle l'une est plus risquée que l'autre". Il est donc permis de penser que la position des Communautés européennes est une position de principe. Cette position est influencée par des considérations de gestion de risques et par la mise en œuvre du principe dit de précaution.

423. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Risques additionnels

424. Deux questions différentes se présentent ici. La première est celle du risque dit combiné, défini comme étant "la probabilité de la survenue d'un effet néfaste sur la santé découlant de toutes les voies d'exposition à une substance unique" (*US EPA, 2001*). La question consiste donc à savoir dans quelle mesure l'exposition aux hormones naturelles présentes dans la viande des bovins traités s'ajoute aux concentrations endogènes de ces hormones, ainsi qu'à l'exposition à ces mêmes hormones provenant, par exemple, d'un agent thérapeutique, ou de toute autre source.

425. La deuxième est celle du risque dit cumulé, défini comme étant "la probabilité de la survenue d'un effet néfaste sur la santé découlant de toutes les voies d'exposition à un groupe de substances partageant un mécanisme commun de toxicité" (US EPA, 2001). La question ici consiste à savoir dans quelle mesure des composés produisant des effets similaires devraient être cumulés les uns aux autres, ainsi qu'à d'autres substances similaires d'origine exogène ou endogène.

US EPA Office of Pesticide Programs (2001). General Principles For Performing Aggregate Exposure And Risk Assessments (<http://www.epa.gov/pesticides/trac/science/aggregate.pdf>).

426. Les avis des Communautés européennes et les autres documents mentionnés par celles-ci ne quantifient pas la mesure dans laquelle les résidus d'hormones contribuent à des expositions combinées ou cumulées à plusieurs dangers. Le risque combiné dans lequel l'une des principales expositions provient d'une substance présente à l'état endogène est très courant pour les minéraux essentiels et les vitamines. Toutefois les expositions en cause dans ce cas sont principalement exogènes du fait qu'il n'existe pas de production endogène pour la plupart des vitamines et des minéraux (voir CSAH, 2000). Il y a cependant quelques exceptions, comme la vitamine D. Dans ce cas, le CSAH (2002) a pris en compte le taux de production endogène pour estimer un niveau d'apport supérieur tolérable. Une attention particulière a été apportée à la mesure dans laquelle les concentrations circulantes de la vitamine active sont modifiées par une exposition exogène. Le JECFA (2000b) a adopté une approche plus ou moins analogue pour les hormones naturelles, dès lors que l'exposition a été jaugée en fonction des doses qui occasionnent ou n'occasionnent pas de modifications des concentrations circulantes de l'hormone étudiée.

CSAH (Comité scientifique de l'alimentation humaine) (2000). Guidelines for the development of tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. SCF/CS/NUT/UPPLEV/11 Final (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out80a_en.pdf).

CSAH (Comité scientifique de l'alimentation humaine) (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin D. SCF/CS/NUT/UPPLEV/38 Final (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out157_en.pdf).

427. La question du risque cumulé est plus complexe. En effet, ce type d'approche n'est actuellement appliqué que dans des circonstances très limitées, pour les dioxines et les organophosphorés par exemple. Au sein de l'Union européenne, aucune évaluation du risque cumulé lié à la présence de résidus de pesticides ou de médicaments vétérinaires dans les aliments n'est effectuée de façon habituelle. De fait, il n'existe actuellement aucun accord quant à la méthode appropriée à utiliser (voir CE, 2005b), et de telles évaluations ne semblent pas prévues dans un proche avenir pour les résidus de médicaments vétérinaires. Les évaluations de risques sont donc réalisées individuellement sur chaque composé. Il convient toutefois de souligner que tout groupe d'évaluations de risques traiterait les substances au cas par cas et que l'absence d'accord en ce qui concerne la méthode ne signifie pas nécessairement que le risque cumulé ne serait pas examiné d'une manière ou d'une autre si ce risque était considéré comme une préoccupation importante et immédiate.

CE (2005b). Règlement (CE) n° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil (http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_070/l_07020050316fr00010016.pdf).

428. L'importance du risque combiné et du risque cumulé dépend essentiellement de la présence ou de l'absence d'un seuil dans la relation dose-réponse. L'un des arguments des CE est que les hormones peuvent causer le cancer par un mécanisme génotoxique qui ne présente pas de seuil. Si cela était vrai, il serait assurément exact d'affirmer que toute exposition additionnelle produit un effet

différentiel sur le risque, si l'on suppose que la relation dose-réponse est une fonction linéaire dépourvue de seuil, ce qui est l'hypothèse implicite dans ces circonstances. Le risque différentiel dépendrait de la mesure dans laquelle l'exposition globale est modifiée par l'exposition additionnelle causée par les hormones présentes dans la viande de bovins traités, par rapport aux concentrations endogènes en présence. Par contre, s'agissant de composés dotés du même mécanisme d'action mais présentant un seuil pour tous les effets biologiques en cause, une exposition additionnelle ne serait préoccupante que si l'exposition totale corrigée en fonction de la puissance était supérieure au seuil (la DJA) (*Silva et al.*, 2002).

429. Ma réponse aurait été identique au moment de l'adoption de la directive des CE, en septembre 2003.

Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A (2002). Something from "nothing"--eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. Environ Sci Technol, 36:1751-1756.

M. Guttenplan

430. En général, les CE ne tentent pas d'évaluer les "risques additionnels résultant d'expositions cumulées de l'homme à des risques multiples, s'ajoutant à la production endogène de certaines de ces hormones par les animaux et les êtres humains". Toutefois, comme cela a été indiqué dans ma réponse à la question n° 52, il a été présenté une comparaison estimative entre la quantité d'œstrogènes apportée par la consommation de viande de bovins traités aux hormones et la quantité normalement produite par des enfants prépubères.

431. Je suis plus à l'aise avec cette estimation maintenant que je ne l'aurais été en 2003, du fait des améliorations apportées aux techniques d'analyse.

56. Le JECFA/le Codex ont-ils tenu compte de ces "risques additionnels" dans leur évaluation des risques liés aux cinq hormones? Existe-t-il des directives reconnues au niveau international concernant la mise en œuvre d'évaluations de "risques additionnels"?

M. Boisseau

432. Le JECFA/le Codex ont tenu compte de ces "risques additionnels" dans leur évaluation des risques liés aux hormones naturelles, et ont conclu qu'étant donné l'importante marge de sécurité existant entre l'apport estimé maximal de résidus de ces hormones et les DJA correspondantes établies, l'ingestion estimée de ces résidus ne présentait pas de risque pour la santé des consommateurs. Le JECFA/le Codex n'ont pas tenu compte de ces "risques additionnels" dans leur évaluation des risques des activateurs de croissance hormonaux de synthèse. À ma connaissance, il n'existe aucune directive reconnue au niveau international concernant la mise en œuvre d'évaluations de "risques additionnels".

M. Boobis

Prise en compte d'effets additionnels par le JECFA/le Codex

433. Le JECFA/le Codex ont effectivement tenu compte du risque combiné découlant de l'exposition aux hormones naturelles lorsque celles-ci sont présentes sous forme de résidus dans la viande de bovins traités. Il a été estimé que l'exposition à ces produits représentait une augmentation insignifiante de l'exposition globale aux matières dotées d'activité hormonale provenant d'autres sources exogènes et surtout de sources endogènes (*JECFA, 2000*). Le JECFA/le Codex n'ont pas

utilisé de méthode formelle pour évaluer le risque cumulé lié à l'exposition aux hormones. Toutefois, le JECFA a considéré que toutes les courbes dose-réponse correspondant aux effets néfastes potentiels dus aux hormones présentaient des seuils et qu'il existait une marge d'exposition considérable entre l'AJMT et la DJA pour toutes les hormones. Le JECFA en a conclu que l'exposition à d'éventuels résidus provenant de la viande de bovins traités ne présenterait pas de risque supplémentaire par rapport au risque naturel. Dans une évaluation des risques cumulés, le schéma d'exposition doit être pris en compte. Il n'est pas normal de supposer que l'exposition à chaque substance équivaut à l'apport journalier maximal théorique, car cela exigerait une exposition chronique au niveau maximal à chacune de ces hormones. Pour éviter que l'évaluation ne soit effectuée avec une prudence aussi exagérée, des approches probabilistes de l'estimation de l'exposition sont utilisées lors des évaluations des risques cumulés (*US EPA, 2002*).

434. Le JECFA a mis au point une méthode spécifique pour évaluer les risques associés aux dioxines et aux substances liées partageant un même mécanisme d'action (*JECFA, 2002a*). Des approches ponctuelles ont été mises en œuvre de façon très limitée pour certaines combinaisons de pesticides et de médicaments vétérinaires, par exemple dans les cas où ces produits partagent un même métabolite. Il n'existe toutefois aucune directive internationale concernant la mise en œuvre d'une évaluation complète des risques cumulés. L'une des difficultés consiste à obtenir des données représentatives sur la consommation des substances utilisées pour produire les denrées alimentaires. Certains des problèmes en cause, ainsi que les approches méthodologiques qui ont été conçues, ont été examinés par *Wilkinson et al. (2000)*. Il convient toutefois de remarquer que ces méthodes sont applicables aux composés qui partagent ce qui a été défini comme un mécanisme commun, c'est-à-dire lorsqu'il existe un risque cumulé. Aucun accord international ne définit la manière de réaliser une évaluation des risques combinés liés à des composés utilisant les mécanismes cancérogènes dont les CE font mention pour les hormones, c'est-à-dire à des composés dont la génotoxicité est due à une interaction directe ou indirecte sur l'ADN. Si l'on supposait que l'effet est dépourvu de seuil et que l'on appliquait le principe ALARP, aucune évaluation des risques cumulés liés à ces composés ne serait nécessaire.

JECFA (2002a). Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Polychlorinated Dibenzodioxins, Polychlorinated Dibenzofurans, and Coplanar Polychlorinated Biphenyls. Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 48, OMS, Genève.

US EPA (2002). Organophosphate Pesticides: Revised Cumulative Risk Assessment (<http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/rra-op/>).

Wilkinson CF, Christoph GR, Julien E, Kelley JM, Kronenberg J, McCarthy J and Reiss R (2000). Assessing the risks of exposures to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: how to cumulate? Regul Toxicol Pharmacol, 31:30-43.

M. Guttenplan

435. J'ai pu trouver des évaluations de risques additionnels liés aux hormones dans les documents, et je n'ai connaissance d'aucune directive reconnue au niveau international.

57. **Le Canada fait l'observation suivante: "une simple molécule, jugée très dangereuse par les Communautés européennes lorsqu'elle est présente dans la viande issue d'animaux traités au moyen d'activateurs de croissance hormonaux, perd subitement ce caractère dangereux lorsqu'elle est consommée dans la viande provenant d'animaux traités à des fins thérapeutiques ou zootechniques. Les préoccupations des Communautés européennes à l'égard du potentiel génotoxique de l'œstradiol-17 β disparaissent de façon soudaine et inexplicable." Dans quelle mesure les traitements hormonaux des bovins à des fins autres que la stimulation de la croissance, par exemple à des fins thérapeutiques**

ou zootechniques, sont-ils pris en compte, si tant est qu'ils le sont, par les Communautés européennes dans leur évaluation des effets cumulés de la consommation de viande contenant des résidus des hormones en cause? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir le paragraphe 97 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation, les paragraphes 17 à 20 de l'exposé liminaire des États-Unis]

M. Boisseau

436. L'observation du Canada selon laquelle "une simple molécule [...] disparaissent de façon soudaine et inexplicable" fait allusion à l'hypothèse théorique selon laquelle un contact entre une seule molécule de composé génotoxique et le matériel génétique humain serait susceptible d'endommager celui-ci et donc d'induire un processus cancérogène. Cette préoccupation vient, dans une certaine mesure, à l'appui de la position des Communautés européennes sur l'œstradiol-17β. En conséquence, faisant fond sur cette hypothèse théorique et quelque peu extrême, le Canada conteste l'autorisation, accordée par les Communautés européennes, d'utiliser l'œstradiol-17β à des fins thérapeutiques et zootechniques. Il convient de noter que, selon la directive 2003/74/CE, l'utilisation de l'œstradiol-17β n'est autorisée que pour trois indications thérapeutiques précises, et, uniquement jusqu'au 16 octobre 2006, pour l'induction de l'œstrus. Les Communautés européennes estiment qu'étant donné les conditions de ces utilisations de l'œstradiol-17β (nombre limité d'animaux traités, utilisation limitée pendant la vie de ces animaux et très faible probabilité de les voir sacrifiés après traitement), l'exposition des consommateurs à des résidus d'œstradiol-17β issus de ces utilisations peut être considérée comme négligeable. Cette conception des CE est acceptable, mais elle soulève néanmoins un problème de principe dans la mesure où elle constitue une exception à la position très stricte des CE selon laquelle il n'est possible d'accepter aucune augmentation de l'exposition des consommateurs à des résidus d'œstradiol-17β. Dès le moment où les Communautés européennes acceptent de considérer comme négligeables les résidus de l'œstradiol-17β utilisé à des fins thérapeutiques et zootechniques, elles s'engagent dans une procédure d'évaluation quantitative, ou au moins semi-quantitative, de l'exposition à ces résidus d'œstradiol-17β et n'ont, dès lors, aucune bonne raison de contester un élargissement de l'évaluation de l'exposition à l'ensemble des résidus issus des différentes sources d'œstradiol-17β. Cette observation a déjà été faite dans ma réponse à la question n° 31.

437. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Exposition combinée et exposition cumulée aux hormones

438. Comme je l'ai indiqué plus haut (dans ma réponse à la question n° 56), l'ensemble des expositions à une même substance provenant de plusieurs sources répond à la définition de l'exposition dite combinée, tandis que l'exposition à plusieurs composés agissant selon un même mécanisme répond à la définition de l'exposition dite cumulée. Pour autant que je sache, les CE ne tiennent aucun compte des traitements hormonaux des bovins à des fins autres que la stimulation de la croissance (par exemple à des fins thérapeutiques) dans leur évaluation des effets combinés ou cumulés des hormones dans la viande des bovins traités en vue de la stimulation de la croissance. Cette réponse exige cependant un éclaircissement. Tout d'abord, comme indiqué ci-dessus (dans ma réponse à la question n° 56), la question du risque combiné et du risque cumulé dépend de certaines hypothèses sur la nature de la relation dose-réponse. Ensuite, bien que cela soit peu probable au vu des opinions des CE sur les hormones anabolisantes, la nécessité de tenir compte d'autres expositions de cet ordre dépendrait de l'écart estimé entre l'exposition et un seuil éventuel, c'est-à-dire de la marge

d'exposition. Ma réponse aurait été identique au moment de l'adoption de la directive des CE, en septembre 2003.

M. Guttenplan

439. Dans leurs évaluations des risques, les CE ne prennent pas vraiment en compte les traitements hormonaux des bovins à des fins autres que la stimulation de la croissance, telles que les fins thérapeutiques ou zootechniques. Leurs raisons sont résumées dans la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis) au paragraphe 114: "Les seules exceptions à l'interdiction frappant la viande de bovins traités au moyen d'hormones concernaient l'utilisation de certaines de ces substances à des fins zootechniques et thérapeutiques, lorsque aucune alternative viable efficace ne semblait exister. Cette exception était fondée sur l'estimation selon laquelle, du fait de la nature et de la durée limitée des traitements, des faibles quantités administrées et des conditions strictes imposées pour empêcher tout mauvais usage, cette utilisation ne constituait pas un danger pour la santé publique." Cette réponse est raisonnable. Ma réponse n'aurait pas été différente en 2003.

58. Veuillez faire des observations sur l'affirmation figurant au paragraphe 94 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial selon laquelle "tout ce que l'on peut inférer à partir des données scientifiques disponibles est que plus l'exposition aux résidus de ces hormones est élevée, plus il est probable que le risque est grand", en tenant compte du paragraphe 105 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation.

M. Boisseau

440. Ma réponse à la question n° 55 s'applique également à la présente question.

M. Boobis

Dépendance du risque à l'égard de la dose

441. Une fois encore, cela dépend essentiellement de la conclusion concernant la nature de la relation dose-réponse. Le JECFA a conclu qu'il existait un seuil pour tous les effets indésirables potentiels des hormones et qu'il était possible d'établir des DJA. En conséquence, comme cela a été indiqué plus haut, une exposition inférieure à la DJA est considérée comme ne présentant pas de risque appréciable. L'exposition estimée, due à la consommation de viande de bovins traités, entraînerait des apports d'hormones très inférieurs aux DJA respectives; dans le cas de l'œstradiol, cet apport représenterait seulement 1,5 pour cent de la DJA (*JECFA, 2000a, b*). Dès lors, dans des limites relativement larges, une exposition plus élevée n'entraînerait aucune augmentation du risque. Cela serait le cas jusqu'au dépassement de la DJA. Il convient également de remarquer que pour les résultats finals en cause dans l'évaluation du JECFA, notamment pour le cancer, le risque ne serait significatif qu'après une exposition prolongée (*Coombs et al., 2005*). Une exposition occasionnelle, même supérieure à la DJA, ne serait donc pas considérée comme un risque appréciable.

M. Guttenplan

442. Cette affirmation des CE manque vraiment de force. Toutefois, l'alternative serait de proposer un risque qui pourrait être extrêmement inexact en raison des limitations imposées par l'absence de données fiables relatives aux concentrations d'hormones dans la viande. Une meilleure approche aurait peut-être été de proposer plusieurs scénarios. Ceux-ci auraient alors pu être confirmés ou infirmés par des études ultérieures.

- 59. Les preuves scientifiques mentionnées par les Communautés européennes font-elles état d'éventuels effets indésirables sur le système immunitaire dus à la consommation de viande provenant de bovins traités aux hormones anabolisantes en cause? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi? [voir le paragraphe 132 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation]**

M. Boisseau

443. Les preuves scientifiques mentionnées par les Communautés européennes permettent d'identifier des effets indésirables sur le système immunitaire dus à des substances dotées d'une activité hormonale. Néanmoins, dans la mesure où ces données n'ont pas été utilisées par les Communautés européennes pour procéder à une évaluation des risques susceptible d'établir, pour ceux de ces effets qui sont associés aux propriétés hormonales des activateurs de croissance, des seuils et des DJA différents de ceux qui ont été proposés par le JECFA, on ne peut conclure que ces preuves scientifiques permettent de détecter des effets indésirables sur le système immunitaire associés à la consommation de viande de bovins traités au moyen des activateurs de croissance en cause.

444. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Effets sur le système immunitaire

445. Les preuves relatives aux effets immunitaires d'hormones, telles que l'œstradiol, auxquelles font référence les CE ne mettent en évidence aucun effet indésirable sur le système immunitaire qui serait dû à la consommation de viande de bovins traités. D'une manière générale, les preuves évidentes d'effets immunitaires ont été observées uniquement à hautes doses. Il n'existe aucune preuve indiquant que des doses telles que celles qui sont occasionnées par la consommation de viande issue d'animaux traités aient un effet quelconque sur le système immunitaire (*JECFA, 2000b; CMV, 1999*). Il convient également de noter le caractère essentiel de l'exposition aux concentrations endogènes dans le cas des effets immunitaires. Compte tenu de la marge d'exposition importante relative aux apports que l'on peut attendre des résidus présents dans la viande d'animaux traités, aucun effet sur le système immunitaire n'est prévisible, dès lors que la modulation immunitaire dépend de la dose et qu'il existe des seuils pour les effets de ce type (*Barton et Clewell, 2000; Kroes et al., 2004*).

446. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

Barton HA et Clewell HJ 3rd (2000). Evaluating noncancer effects of trichloroethylene: dosimetry, mode of action, and risk assessment. Environ Health Perspect, 108 (Suppl 2):323-334.

Kroes R, Renwick AG, Cheeseman M, Kleiner J, Mangelsdorf I, Piersma A, Schilter B, Schlatter J, van Schothorst F, Vos JG et Wurtzen G; European branch of the International Life Sciences Institute (2004). Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet. Food Chem Toxicol, 42:65-83.

M. Guttenplan

447. La relation entre les œstrogènes et les affections auto-immunes fait l'objet d'une attention considérable (Avis CSMVSP, 30 avril 1999, section 2.4). Il est prouvé que les œstrogènes peuvent jouer un rôle dans le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, la thyroïdite. En outre, le développement des

allergies est considéré comme étant au moins partiellement lié aux œstrogènes. Les études réalisées sur des animaux de laboratoires n'ont pas permis de détecter d'effets relatifs au système immunitaire; toutefois, on ne sait pas vraiment si les types d'effets susceptibles de se produire chez l'homme seraient détectés sur des animaux de laboratoire. Aucune étude n'a établi avec certitude de relation entre l'apport provenant de la viande d'animaux traités aux hormones et les troubles mentionnés ci-dessus.

448. Ma réponse n'aurait pas été différente en 2003.

60. Les preuves scientifiques mentionnées par les Communautés européennes indiquent-elles si les effets indésirables potentiels sur la santé des personnes découlant de la consommation de viande de bovins traités aux hormones à des fins anabolisantes diffèrent suivant que ces hormones sont administrées sous forme d'additifs alimentaires (MGA) ou implantées? Fournissent-elles, le cas échéant, une évaluation de cette différence? À votre connaissance, existe-t-il des différences?

M. Boisseau

449. Je ne comprends pas cette question, dès lors que le MGA est utilisé uniquement en tant qu'additif alimentaire et que les cinq autres hormones ne sont pas utilisés sous cette forme. Concernant l'évaluation de l'exposition, le risque est potentiellement supérieur dans le cas des activateurs de croissance implantés qui présentent plus d'"options" en matière de détournements/abus d'utilisation. Néanmoins, à cet égard, les preuves scientifiques mentionnées par les Communautés européennes n'indiquent pas si les effets indésirables potentiels sur la santé des personnes découlant de la consommation de viande de bovins traités aux hormones à des fins anabolisantes diffèrent suivant que ces hormones sont administrées sous forme d'additifs alimentaires (MGA) ou implantées, et ne fournissent aucune évaluation à cet égard.

M. Boobis

Importance de la méthode d'utilisation des hormones

450. Les preuves scientifiques mentionnées par les CE n'indiquent pas si les effets indésirables potentiels sur la santé des personnes découlant de la consommation de viande de bovins traités aux hormones à des fins anabolisantes diffèrent suivant que ces hormones sont administrées sous forme d'additifs alimentaires ou implantées. Je n'ai pas connaissance de telles différences. Aucune n'est prévisible dès lors que, dans tous les cas, l'apport maximal serait très inférieur à la DJA. Il existe cependant une situation qui pourrait, au moins hypothétiquement, donner lieu à une différence des effets. Il s'agit du détournement ou de l'abus d'utilisation des composés lorsque ceux-ci sont utilisés en tant qu'activateurs de croissance. Par exemple, une erreur de site d'implantation, ou l'introduction au sein de la chaîne alimentaire de tissus contenant l'implant (l'oreille de l'animal, par exemple), pourrait entraîner une augmentation de l'apport. Toutefois, s'il est vrai que cela augmenterait l'exposition, il demeure de toute manière improbable que celle-ci puisse dépasser la DJA, surtout pendant une durée prolongée. Il est également peu vraisemblable que cela se produise si l'on tient compte de la manière dont les hormones sont utilisées et contrôlées.

M. Guttenplan

451. Cette question ne semble pas viser un produit spécifique, mais le MGA est la seule hormone qui peut être administrée par les deux méthodes. L'éventualité d'un excès d'exposition au MGA existe par les deux voies (orale et implantatoire), mais il est impossible d'affirmer – pour autant que je sache – qu'une de ces deux voies a plus de chances que l'autre de contribuer à la présence de concentrations élevées de cette hormone dans la viande (CSMVSP, section 4.1.4).

61. À votre avis et compte tenu des renseignements fournis par les parties ainsi que des travaux réalisés par le JECFA et le Codex, les preuves scientifiques dont disposaient les Communautés européennes au moment où elles ont adopté leur directive (septembre 2003) leur permettaient-elles de procéder à une évaluation (quantitative ou qualitative) de l'éventualité d'effets indésirables pour la santé des personnes découlant de la consommation de viande de bovins traités au moyen a) de progestérone, b) de testostérone, c) de trenbolone, d) de zéranol et e) d'acétate de mélengestrol? Votre réponse serait-elle différente à la lumière des preuves scientifiques fournies après l'adoption de la directive?

M. Boisseau

452. Il est difficile de répondre à cette question car je ne sais pas vraiment quelles étaient les données dont disposaient les Communautés européennes au moment où elles ont adopté leur directive (septembre 2003). D'un autre côté, il est toujours possible de réclamer des données supplémentaires pour clarifier de nouveaux aspects, de sorte que la volonté d'éliminer toute incertitude scientifique risque d'aboutir à un processus d'évaluation interminable.

453. Ma réponse n'aurait pas été différente à la lumière des preuves scientifiques fournies après l'adoption de la directive des CE en septembre 2003.

M. Boobis

Disponibilité de données pour l'évaluation des risques avant septembre 2003

454. À mon avis les CE disposaient d'une information suffisante pour procéder à une évaluation des risques pour la santé des personnes découlant de la consommation de viande de bovins traités au moyen de l'une quelconque des six hormones en cause (voir les observations ci-dessus pour obtenir des détails sur le fondement de cette réponse). Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Guttenplan

455. Les données indiquent effectivement que toutes les hormones sont susceptibles de générer des effets indésirables. Toutefois, la possibilité de procéder à une évaluation (qualitative ou quantitative) des risques varie selon les composés.

456. La progestérone et la testostérone ont fait l'objet de recherches approfondies et l'évaluation, fondée sur la concentration sans effet et sur un facteur de sécurité, semble valable (réunion du JECFA, 52^{ème} rapport – WHA TRS 893).

457. Les données disponibles concernant la trenbolone et le zéranol sont plus limitées et la majorité d'entre elles ont été obtenues *in vitro* (avis de 2002 du CSMVSP) ou moins récemment (par exemple réunion du JECFA, 34^{ème} rapport, 1989, et 32^{ème} rapport, 1988). Toutefois, les deux composés semblent posséder des propriétés œstrogènes potentielles marquées. Les méthodes expérimentales et analytiques se sont améliorées, mais il ne semble pas possible d'établir des DJA précises à ce stade. Des études sont encore nécessaires sur des animaux de laboratoire et sur les concentrations présentes dans la viande de bœuf. Cela dit, les données disponibles au moment où la directive a été publiée ne permettaient pas d'exclure l'éventualité d'effets indésirables.

458. Acétate de mélengestrol. L'évaluation relative à l'acétate de mélengestrol semble valable. Des études détaillées ont été réalisées sur le métabolisme et les propriétés œstrogènes du composé. Les concentrations réelles dans la viande de bœuf n'ont pas été fournies. (JECFA 62 FNP 41/16)

459. Mon avis n'aurait pas été différent en 2003.

62. Les preuves scientifiques sur lesquelles se fondent les Communautés européennes corroborent-elles l'assertion des CE selon laquelle les dernières études scientifiques, entreprises à partir de 1997, ont mis en évidence de nouvelles et importantes lacunes, insuffisances et contradictions dans les données scientifiques et les connaissances actuellement disponibles sur ces hormones, de sorte que de nouvelles études scientifiques sont nécessaires avant que le risque que présente pour la santé des personnes la consommation de viande de bovins traités au moyen de ces hormones à des fins anabolisantes puisse être évalué? Votre réponse aurait-elle été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003? Dans l'affirmative, pourquoi?

M. Boisseau

460. Les preuves scientifiques sur lesquelles se fondent les Communautés européennes apportent assurément de nouvelles données intéressantes qui peuvent être utiles pour évaluer les risques liés aux résidus d'activateurs de croissance. Malgré cela, ces nouvelles données ne font apparaître aucune lacune, insuffisance ou contradiction importante dans les données scientifiques que le JECFA a utilisées pour ses évaluations de risques. Pour décider si de nouvelles études scientifiques sont ou non nécessaires avant que le risque que présente pour la santé des personnes la consommation de viande de bovins traités au moyen de ces hormones à des fins anabolisantes puisse être évalué, il serait indiqué de procéder à une évaluation provisoire des risques avec ces nouvelles données et de voir si les conclusions de cette évaluation provisoire diffèrent de façon significative de celles du JECFA. Si c'est le cas, il serait alors nécessaire de préciser les études supplémentaires à réaliser de manière à clarifier toutes les questions en suspens et à achever l'évaluation des risques liés aux résidus d'hormones utilisées en tant qu'activateurs de croissance.

461. Ma réponse n'aurait pas été différente lorsque la directive des CE a été adoptée, en septembre 2003.

M. Boobis

Renseignements additionnels apportés par les études entreprises à compter de 1997

Techniques d'analyse et dosages biologiques de dépistage

462. Le CSMVSP (2002) a estimé que les études concernant la conception de méthodes d'analyse améliorées n'étaient pas concluantes.

463. "Malgré les nombreux résultats analytiques positifs de cette étude, le faible nombre d'échantillons ne permet pas une validation qualifiée des caractéristiques types comme la sensibilité, la spécificité, la précision et la reproductibilité (étude n° 1, étude n° 8)." Je partage cette conclusion.

464. "Les résultats obtenus semblent indiquer que l'utilisation de levure recombinante et d'hépatocytes de truite arc-en-ciel pour détecter les composés œstrogènes n'est pas justifiée étant donné leur manque de sensibilité" (étude n° 9). Je partage cette conclusion. Il convient de noter que malgré l'utilisation de stratégies similaires, la limite de sensibilité du dosage du gène rapporteur de levure utilisé par Le Guevel et Pakdel (2001) dans l'étude n° 9 était très inférieure à celle du dosage utilisé par Klein *et al.* (1994).

Métabolisme de l'œstradiol-17 β chez les bovins et puissance œstrogène des résidus

465. Parmi les constatations qui peuvent être pertinentes, il faut mentionner la découverte d'esters d'acide gras de l'œstradiol produits par les bovins à la suite du traitement (étude n° 3). L'étude de Hoogenboom *et al.* (2001) a montré que l'œstrogénicité intrinsèque de ces esters est très inférieure (de 25 à 200 fois) à celle de l'œstradiol. Paris *et al.* (2001) ont montré que, très vraisemblablement en raison de différences cinétiques, l'œstrogénicité des esters d'acide gras *in vivo* est jusqu'à dix fois plus élevée que celle de l'œstradiol. Toutefois, il est manifeste que la différence de puissance par rapport à l'hormone d'origine n'est pas très élevée, ni même apparente, à faibles doses, lorsque les effets sont minimaux. Étant donné que les esters ne constituent pas le principal résidu présent dans la viande des animaux traités, étant donné, par ailleurs, que dans certains tissus, comme les tissus musculaires, les concentrations sont très inférieures à celles de l'œstradiol (Maume *et al.*, 2001), et que l'exposition totale est très basse (JECFA, 2000), en particulier si l'on tient compte de l'équilibre de la ration, ces constatations ne soulèvent aucune préoccupation supplémentaire concernant les éventuels effets sanitaires indésirables des hormones lorsqu'elles sont utilisées pour traiter les bovins. Il faut remarquer en outre que, dans toutes les études mentionnées ci-dessus sur les esters d'acide gras de l'œstradiol, les concentrations sont exprimées en unités de masse par litre ou par kg. Toutefois, dans la mesure où seule la fraction œstradiol est dotée d'une activité hormonale (Hoogenboom *et al.*, 2001), cette méthode tend à surestimer la puissance du composé par rapport à celle de l'œstradiol (le facteur de surestimation est de 2, en raison de la différence de masse moléculaire par rapport à celle de l'œstradiol).

Maume D, Deceuninck Y, Pouponneau K, Paris A, Le Bizec B et Andre F (2001). Assessment of estradiol and its metabolites in meat. APMIS, 109:32-38.

Paris A, Goutal I, Richard J, Becret A et Gueraud F (2001). Uterotrophic effect of a saturated fatty acid 17-ester of estradiol-17beta administered orally to juvenile rats. APMIS, 109:365-375.

Implants multiples, doses multiples

466. L'étude n° 5 a permis de déterminer l'incidence des mauvais usages et des doses multiples sur les concentrations résiduelles d'hormones dans la viande. L'application de doses allant jusqu'à dix fois la dose approuvée a entraîné, dans certains tissus, une augmentation des concentrations de certaines hormones conduisant à un dépassement de la limite maximale de résidus, dans les cas où celle-ci avait été établie par le Codex. S'agissant des hormones pour lesquelles aucune LMR n'avait été fixée, des augmentations se sont également produites dans certains tissus (Lange *et al.*, 2001).

467. "Le traitement au zéranol et au propionate de testostérone, même après plusieurs applications, n'a occasionné aucun problème en ce qui a trait au dépassement des concentrations seuils."

468. "Un dépassement de la LMR a été observé dans le foie d'un animal sur deux à la suite de l'application d'une dose trois fois supérieure à celle de l'implant d'acétate de trenbolone de 200 mg, et dans celui de deux animaux sur deux après l'application d'une dose dix fois supérieure à celle de cet implant." Aucun dépassement n'a été constaté dans les tissus musculaires, rénaux ou adipeux, même après l'application d'une dose dix fois plus élevée que la dose approuvée.

469. Concernant l'œstradiol, l'augmentation maximale observée, quel que soit le tissu, n'était pas plus que proportionnelle à la dose appliquée. En conséquence, même en cas de dose dix fois supérieure à la dose approuvée, l'apport resterait largement inférieur à la DJA. Ces conclusions doivent être nuancées par le fait que tous les tissus ne présentaient pas des concentrations aussi élevées, et que la probabilité de consommer de façon régulière des concentrations aussi importantes

de résidus est minimale. Il convient également de noter que le Codex a jugé inutile de fixer une LMR pour l'œstradiol.

Lange IG, Daxenberger A et Meyer HH (2001). Hormone contents in peripheral tissues after correct and off-label use of growth promoting hormones in cattle: effect of the implant preparations Filaplix-H, Raglo, Synovex-H and Synovex Plus. APMIS, 109:53-65.

470. Dans l'étude portant sur le choix erroné du site d'implantation (Daxenberger *et al.*, 2000), des quantités substantielles d'hormone résiduelle ont parfois été découvertes au site d'implantation lorsque celui-ci n'était pas conforme aux recommandations. Toutefois, pour que ces résultats aient une signification pour le consommateur, il faut tenir compte d'un certain nombre de facteurs, dont notamment la probabilité d'une utilisation non conforme au résumé des caractéristiques du produit, l'impossibilité de détecter le site d'implantation, l'utilisation du site d'implantation à des fins alimentaires, l'introduction de viande contaminée dans les aliments et la fréquence de ce type de contamination. Aucune donnée n'est présentée sur la prévalence d'une contamination importante de ce type occasionnée par l'usage des hormones à des fins vétérinaires. De fait, il n'est présenté aucune preuve indiquant que ce type de détournement d'utilisation se produit avec les conséquences mentionnées par les auteurs.

Daxenberger A, Lange IG, Meyer K, Meyer HH, Daxenberger A, Lange IG, Meyer K et Meyer HH (2000). Detection of anabolic residues in misplaced implantation sites in cattle. J AOAC Int, 83:809-819.

471. Les études concernant le MGA (Daxenberger *et al.*, 1999) ont permis d'observer une hausse des concentrations tissulaires parallèle à l'augmentation de la dose, surtout dans la graisse. Cette hausse est approximativement proportionnelle à celle de la dose dans la graisse, mais notablement inférieure dans les autres tissus (muscle, rein, foie). Si l'on se fonde sur les valeurs obtenues dans l'étude de Daxenberger *et al.* (1999) après l'application d'une dose équivalente à dix fois la dose maximale approuvée, la consommation des quatre tissus (foie, rein, graisse et muscle) suivant les quantités fixées par le JECFA (300 g de muscle, 100 g de foie, 50 g de rein et 50 g de graisse par jour) aboutirait à un léger dépassement de la DJA (2,5 µg contre 1,8 µg). Il convient toutefois de noter que, pour cela, tous les tissus devraient provenir d'animaux traités au moyen de cette dose élevée et que l'exposition devrait être prolongée. La probabilité que cela se produise est extrêmement faible.

Daxenberger A, Meyer K, Hageleit M et Meyer HH (1999). Detection of melengestrol acetate residues in plasma and edible tissues of heifers. Vet Q, 21:154-158.

472. L'un des objectifs de l'évaluation des risques est de déterminer s'il est possible de fixer des valeurs guides fondées sur des critères sanitaires (la DJA, par exemple) et des niveaux supérieurs d'exposition (valeurs de références ou limites maximales de résidus). Si cela est possible et nécessaire, ces valeurs doivent être établies. Les LMR sont définies à la suite d'une utilisation du médicament conforme aux bonnes pratiques vétérinaires (ou aux bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires). Toutes les agences et organisations qui interviennent dans ces activités partagent cette politique (CEE, 1990; CE, 2005b; FAO, 2006). Il est permis, en outre, de se demander quelles sont les conséquences des abus ou des détournements d'utilisation. Toutefois, ce type d'activité inadéquate ne peut pas servir de base à l'établissement des limites maximales de résidus. En effet, il est possible de prévoir et de réglementer des usages conformes aux bonnes pratiques vétérinaires, mais il n'est ni possible ni approprié de réglementer tous les détournements ou abus d'utilisation concevables, qu'ils soient réels ou hypothétiques. La stratégie de gestion des risques qui permet normalement de traiter ces situations consiste à assurer une surveillance adéquate des résidus et à mettre en place un système de sanctions en cas d'infraction. Les médicaments vétérinaires sont traités de cette manière dans toutes les régions du globe où ils sont soumis à une autorisation de mise sur le marché, notamment dans l'Union européenne et aux États-Unis. Du point de vue de la

santé des personnes, l'objectif de l'évaluation des risques liés à des abus ou à des détournements d'utilisation est de savoir si les résidus qui découleraient de ces agissements seraient susceptibles de générer une exposition supérieure à la DJA. Le dépassement de la LMR ou d'un autre niveau de tolérance nominale des résidus a des répercussions en ce qui concerne la détection des abus ou des détournements d'utilisation dans les programmes de surveillance, mais n'a pas de lien direct avec l'existence éventuelle d'un danger sanitaire. Par exemple, les concentrations des résidus issus d'une utilisation de zéranol conforme aux bonnes pratiques vétérinaires produiraient des apports journaliers maximaux théoriques inférieurs aux DJA. Des LMR ont été définies en conséquence, de sorte qu'il existe une marge à l'intérieur de laquelle les résidus peuvent dépasser les LMR tout en générant des apports inférieurs aux DJA (*JECFA, 1988a, b*).

473. Lors de l'examen des conséquences des abus et des détournements d'utilisation, il est nécessaire de tenir compte des aspects suivants:

- la probabilité d'infractions ou d'utilisation non conforme au résumé des caractéristiques du produit;
- les concentrations de résidus présentes après ces détournements ou abus d'utilisation;
- la mesure dans laquelle l'exposition à ces résidus entraînerait un dépassement de la DJA;
- la fréquence ou la durée probable de dépassement de la DJA;
- les conséquences à court terme du dépassement de la DJA;
- la sévérité du critère d'évaluation sur lequel est fondée la DJA;
- la pente de la courbe dose-réponse correspondant au critère d'évaluation sur lequel est fondée la DJA.

474. Si l'on tient compte de tous ces facteurs, les données générées par l'étude de l'Union européenne en question ne fournissent aucune indication selon laquelle il serait impossible de procéder à une évaluation des risques liés aux hormones utilisées en tant qu'activateurs de croissance. Elles ne permettent pas non plus d'affirmer que les résidus découlant des détournements ou abus d'utilisation qui ont fait l'objet de l'étude donneraient lieu à des risques indus, puisque l'apport dépasserait difficilement la DJA, et cela en de rares occasions.

Modification de l'expression génétique par les composés œstrogènes

475. L'étude à laquelle il est fait allusion (étude n° 17), mentionnée dans *Leffers et al. (2001)*, a montré qu'un certain nombre de composés œstrogènes ont une incidence sur l'expression de plusieurs gènes de la lignée cellulaire de cancer du sein MCF7 dotée du récepteur des œstrogènes ER α . La sensibilité de cette lignée cellulaire aux œstrogènes est bien établie. Il est intéressant d'observer que toutes les modifications rapportées par *Leffers et al. (2001)* ont été bloquées par l'antagoniste sélectif du récepteur ER α , ICI82.780. La pertinence des effets observés dans une lignée cellulaire en culture vis-à-vis de la situation *in vivo*, dans laquelle l'importance de la réaction est influencée par des facteurs cinétiques et métaboliques, n'est pas connue. De la même manière, on ne sait pas quelle importance ont les modifications de l'expression génétique pour la toxicité des hormones. De nombreuses modifications peuvent correspondre à la réaction de prolifération à un stimulus œstrogène. Toutefois, les données toxicogénétiques, en l'absence de toute information sur les conséquences fonctionnelles, ne sont généralement pas considérées comme une base saine, utilisable pour une évaluation des risques (*PISC, 2003*).

PISC (2003). *Toxicogenomics and the Risk Assessment of Chemicals for the Protection of Human Health* (<http://www.who.int/entity/ipcs/methods/en/toxicogenomicssummaryreport.pdf>).

Leffers H, Naesby M, Vendelbo B, Skakkebaek NE et Jorgensen M (2001). *Oestrogenic potencies of Zeranol, oestradiol, diethylstilboestrol, Bisphenol-A and genistein: implications for exposure assessment of potential endocrine disrupters*. *Hum Reprod*, 16:1037-1045.

Constatations récentes concernant la mutagénicité et la génotoxicité de l'œstradiol-17β

476. Les rapports récents (étude n° 3 et étude n° 8) sur la mutagénicité confirment que l'œstradiol peut provoquer une réaction toxique *in vitro* dans certains tests. Des preuves ont été obtenues indiquant que cela est dû, au moins partiellement, à la formation de dérivés réactifs de l'oxygène. Les travaux ont été réalisés en grande partie avec des concentrations de métabolites relativement élevées, ajoutées de façon exogène. Pour certains critères d'évaluation de la génotoxicité, l'œstradiol et les métabolites ont donné des résultats négatifs lors des tests. L'une des études mentionnées (*Chakravarti et al., 2001*) a permis d'analyser les effets du métabolite 3,4-quinone *in vivo*. Une dose assez élevée a été administrée dans la peau d'une souris. S'il est vrai que des renseignements mécanistes intéressants peuvent être obtenus en utilisant une voie autre que la voie en cause (en l'occurrence la voie orale, pour les résidus d'origine alimentaire), on peut craindre, dans ce cas, que des différences cinétiques, particulièrement en ce qui concerne le devenir d'une quinone, ne compliquent l'interprétation des résultats. En outre, le mécanisme de la génotoxicité observée n'a pas été établi, et les auteurs admettent qu'elle peut être due à un cycle d'oxydo-réduction. Comme cela a été indiqué précédemment, un tel mécanisme présente normalement un seuil (voir la réponse à la question n° 19, ci-dessus). On sait que les effets génotoxiques de certains composés comme les quinones peuvent présenter des différences notables selon la voie d'administration. De fait, plusieurs autorités, dont les CE, ont accepté un seuil pour la génotoxicité de certains de ces composés *in vivo* à la suite d'une administration orale (*Bureau européen des substances chimiques, 2006*). Il est intéressant d'observer que les mutations observées *in vivo* par *Chakravarti et al. (2001)* dans la peau de souris impliquaient l'adénine et non la guanine. Cela est important dans la mesure où les adduits situés sur l'azote N7 de la guanine "sont considérés comme jouant un rôle essentiel dans l'initiation des tumeurs dépendantes des œstrogènes" (*CSMVSP, 2002*).

Chakravarti D, Mailander PC, Li KM, Higginbotham S, Zhang HL, Gross ML, Meza JL, Cavalieri EL et Rogan EG (2001). Evidence that a burst of DNA depurination in SENCAR mouse skin induces error-prone repair and forms mutations in the H-ras gene. Oncogene, 20:7945-7953.

477. La génotoxicité et la mutagénicité de l'œstradiol et plus particulièrement de ses métabolites *in vitro* étaient déjà bien établies. Aucune nouvelle preuve du potentiel génotoxique de l'œstradiol *in vivo* n'a été apportée. L'étude portant sur l'application d'une quinone sur la peau de souris n'apporte aucun élément nouveau à l'évaluation des risques liés au composé. Aucune preuve de la génotoxicité *in vivo* de l'œstradiol – ou, d'ailleurs, de l'un quelconque de ses métabolites – par suite d'une administration par voie orale n'a été fournie.

Constatations récentes concernant les effets biologiques de la testostérone et de la progestérone

478. Le CSMVSP (2002) conclut dans son rapport que, selon les articles les plus récents, "il n'existe aucune preuve du potentiel génotoxique de la progestérone ou de la testostérone".

Constatations récentes concernant les effets biologiques de la trenbolone et du zéranol

Biotransformation

479. Le métabolisme du zéranol et de la trenbolone a fait l'objet de nouvelles recherches (étude n° 4). Il semble que ces données n'aient pas été publiées dans la documentation examinée par des pairs à ce jour.

480. Les données relatives à la trenbolone montrent que l'énantiomère alpha observé dans des coupes de foie de bovin est présent majoritairement sous forme conjuguée et donc inactivée. Les microsomes hépatiques humains convertissent une partie de l'isomère alpha en isomère bêta actif, mais la cinétique de la réaction et le degré de conjugaison n'ont pas été déterminés. Aucune donnée n'a été présentée sur les concentrations de l'énantiomère alpha dans la viande provenant de bovins traités. Toutefois, ces données n'ont pas d'incidence sur l'évaluation des risques liés à l'acétate de trenbolone. La raison en est que: a) les études toxicologiques ont été menées sur des animaux qui devaient avoir été exposés aux métabolites en cause, b) le JECFA a tenu compte des résidus aussi bien de l'énantiomère alpha que de l'énantiomère bêta pour recommander les LMR de l'acétate de trenbolone.

481. L'étude concernant le zéranol semble indiquer que certains des métabolites peuvent subir une auto-oxydation. Toutefois, l'ampleur d'une telle réaction dans des cellules intactes et la détoxification probable des produits formés n'ont pas été analysées. Il peut être plus important de souligner que c'est la toxicologie du zéranol et de ses résidus qui est en cause, et que les preuves ont permis de détecter une dose seuil pour tous les effets préoccupants.

Liaison à la globuline de transport des hormones sexuelles

482. Cette étude (étude n° 10), qui ne semble pas avoir été publiée dans la documentation examinée par des pairs, a permis d'examiner l'interaction entre les hormones utilisées pour stimuler la croissance et la liaison de la testostérone aux protéines du plasma. Certaines des hormones, mais non le zéranol, ont pu déplacer partiellement la testostérone et cela uniquement à des concentrations très supérieures à celles qui pourraient être obtenues par suite de l'ingestion de viande de bovins traités aux hormones anabolisantes, même à très hautes doses. En conséquence, ces observations sont sans importance pour l'évaluation des risques liés aux hormones. Bien que l'affinité de la liaison du zéranol aux protéines du plasma ait semblé faible, la DJA a été établie sur la base de la dose exogène sans effet. La fraction liée aux protéines devrait être la même pour la DJA et l'AJMT. Le fait que le zéranol se lie ou non à des protéines plasmatiques n'a donc pas d'incidence sur l'évaluation des risques liés à cette hormone.

Mutagenicité et génotoxicité

483. L'étude n° 4 rend compte d'observations récentes sur la génotoxicité et la mutagenicité du zéranol et de la trenbolone. Des tests de mutagenicité, à savoir l'induction de mutations du gène *lacI* d'*E. coli* et de mutations du gène *hprt* dans les cellules V79, réalisés pour les deux composés ont donné des résultats négatifs. Le zéranol n'a pas produit d'adduits à l'ADN dans les hépatocytes du rat, alors qu'un faible niveau de ces adduits à l'ADN a été observé dans le cas de la trenbolone. Ces composés se sont révélés faiblement positifs à un test des micronoyaux, à des concentrations élevées (potentiellement cytotoxiques). Comme cela a été indiqué plus haut (voir ma réponse à la question n° 21), des micronoyaux peuvent se former du fait d'un mécanisme non génotoxique, en particulier à des concentrations susceptibles d'avoir causé une certaine toxicité. En outre, la technique du postmarquage au phosphore 32 n'est pas spécifique et les données citées ci-dessus donnent à penser que la formation d'adduits à l'ADN peut être due à d'autres mécanismes que l'interaction directe avec l'ADN. Si l'on tient compte du nombre d'études adéquatement réalisées qui ont abouti à des résultats

négatifs concernant ces composés, ces données sont insuffisantes pour modifier la conclusion indiquant que ni le zéranol ni l'acétate de trenbolone ne sont génotoxiques *in vivo*. De fait, le CSMVSP (2002) a conclu que "les deux composés n'ont présenté que de très faibles effets" dans les tests *in vitro* au cours desquels des effets positifs ont été observés.

Constatations récentes concernant les effets biologiques du MGA

Biotransformation

484. L'étude n° 4 rend compte de résultats préliminaires non publiés relatifs au métabolisme *in vitro* du MGA. L'étude apporte des preuves de la formation de plusieurs métabolites du MGA dans le foie des êtres humains, des rats et des bovins. Ces constatations n'ont cependant pas d'incidence sur l'évaluation des risques liés au MGA, dès lors que a) les études toxicologiques ont été menées sur des animaux qui devaient avoir été exposés à tous les métabolites en cause, b) lorsque les LMR ont été proposées en 2002, le JECFA a posé comme principe que tous les résidus présents dans la viande des animaux traités au moyen du MGA possédaient la même activité hormonale que le MGA (JECFA, 2002b). La prudence de cette décision a été démontrée postérieurement, puisque les résidus ne se sont pas tous révélés aussi actifs que le MGA proprement dit (JECFA, 2006c).

JECFA (2002b). *Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Étude FAO Alimentation et nutrition 41/14, Rome, Italie.*

JECFA (2006c). *Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO, Rome, Italie (sous presse).*

Liaison du MGA à la globuline de transport des hormones sexuelles

485. L'étude n° 10 présente, de façon assez médiocre, des données préliminaires sur l'interaction entre le MGA et la liaison de la testostérone aux protéines plasmatiques. À des concentrations considérablement plus élevées que celles qui résulteraient de la consommation de viande d'animaux traités au moyen de l'hormone, le MGA a exercé une certaine action de déplacement de la testostérone. Le CSMVSP (2002) a fait des observations sur l'absence de données relatives à la reproductibilité de ces études, et indiqué que dans certaines expériences, aucune courbe de concentration n'avait été élaborée. En conclusion, ces constatations ne modifient pas l'évaluation des risques liés au MGA.

Mutagenicité et génotoxicité du MGA

486. Selon l'étude n° 4, les tests d'induction de mutations du gène *hprt* dans des cellules V79, d'induction de micronoyaux dans les cellules V79 et d'induction de mutations du gène *lacI* dans *E. coli* se sont révélés négatifs pour le MGA. Le MGA pur n'a pas eu d'effet sur l'apoptose, ce qui pourrait susciter des erreurs d'interprétation d'études utilisant des cellules V79. Des études préliminaires réalisées sur des coupes de foie de rat, mentionnées dans un résumé mais non encore publiées dans la documentation examinée par des pairs, semblent indiquer que le MGA pourrait produire des adduits non identifiés à l'ADN. Comme cela a été indiqué précédemment, il existe des mécanismes de formation d'adduits qui n'impliquent pas d'interaction directe entre le composé inducteur et l'ADN. Globalement, la mention d'une liaison covalente présumée à l'ADN, observée à l'aide de la technique du postmarquage au phosphore 32, n'est pas suffisante pour passer outre aux résultats négatifs systématiques obtenus dans une série de tests visant à mesurer la mutagenicité du MGA. En conséquence, les résultats de l'étude n° 5 ne donnent aucune raison de modifier l'évaluation des risques liés au MGA.

Données récentes relatives aux effets endocriniens et développementaux des hormones

Études expérimentales sur les lapins

487. À la demande des CE, une étude a été entreprise sur les effets de l'exposition de lapins *in utero* aux trois hormones exogènes: le MGA, l'acétate de trenbolone et le zéranol (étude n° 11). À ce jour, les seuls renseignements publiés concernent le métabolisme et le devenir de ces composés (Lange *et al.*, 2002). Compte tenu du temps écoulé depuis la publication de cet article (présenté en septembre 2001), il est quelque peu surprenant que les données du reste de l'étude n'aient pas été rendues publiques.

488. L'article de Lange *et al.* (2002) apporte la preuve du transfert transplacentaire des trois hormones. Cela n'est pas surprenant si l'on tient compte des propriétés physicochimiques des composés (liposolubilité, caractère non polaire, taille des molécules) (Syme *et al.*, 2004). En outre, on sait que les hormones endogènes traversent le placenta. Il faut souligner que dans l'étude de Lange *et al.*, les concentrations fœtales des hormones et de leurs métabolites sont similaires ou inférieures, parfois très inférieures, à celles des tissus maternels correspondants, ce qui donne à penser qu'il n'y a pas d'accumulation nette des composés dans les tissus fœtaux. Il convient également de remarquer que le nombre d'animaux étudiés était très faible, ce qui a été signalé par les auteurs eux-mêmes.

Lange IG, Daxenberger A, Meyer HH, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE et Veeramachaneni DN (2002). *Quantitative assessment of foetal exposure to trenbolone acetate, zeranol and melengestrol acetate, following maternal dosing in rabbits. Xenobiotica*, **32**:641-651.

Syme MR, Paxton JW et Keelan JA (2004). *Drug transfer and metabolism by the human placenta. Clin Pharmacokinet*, **43**:487-514.

489. La partie non publiée de cette étude était une recherche concernant les conséquences sanitaires potentielles de l'exposition *in utero* des lapins aux trois hormones. Selon les renseignements fournis, l'exposition *in utero* à de faibles doses a occasionné des modifications limitées de certains paramètres, mais n'a pas été associée à des effets cancérogènes, ni à des effets négatifs sur la capacité de reproduction. Aucun changement du compte spermatique n'a été observé. On ne sait pas au juste si les modifications observées étaient cohérentes, et donc liées au composé, car une seule dose a été utilisée pour chaque composé. Par ailleurs, il n'est pas certain que l'ordre de grandeur de toutes les modifications analysées ait été statistiquement significatif (les modifications ont souvent été qualifiées de "légères", et aucune mesure de la variance n'a été fournie). Les doses utilisées dans cette étude auraient dû produire des niveaux d'exposition beaucoup plus élevés que les niveaux auxquels on pouvait s'attendre de résidus présents dans la viande. Dans le cas de l'acétate de trenbolone et du zéranol, l'exposition s'est effectuée par voie sous-cutanée, évitant donc le métabolisme présystémique de l'intestin et/ou du foie. Dans le cas du MGA, la dose orale administrée était plus de 16 500 fois supérieure à la DJA. En conséquence, même si les effets observés étaient importants du point de vue toxicologique, la DJA assurerait une marge de protection plus qu'adéquate.

490. Dans l'ensemble, on ne peut pas dire que cette étude confirme que la consommation de viande issue d'animaux traités au moyen de ces hormones présente un risque pour la santé des personnes.

Exposition *in utero* et cancer du sein: une étude sur des jumeaux de sexes opposés

491. Cette étude (Kaijser *et al.*, 2001; étude n° 13) a révélé une association entre le poids à la naissance et le risque de cancer du sein. Cette observation est en accord avec l'hypothèse selon laquelle l'exposition *in utero* aux œstrogènes constitue un facteur de risque de cancer du sein. Toutefois, l'étude n'établit pas cette relation. Les auteurs remarquent que "bien que statistiquement

significatives ($p = 0,03$), ces estimations sont fondées sur de petits nombres appartenant aux catégories extrêmes. Toutefois, lorsque les données sont distribuées en groupes de tailles analogues, les associations sont similaires et conservent leur signification statistique, les estimations ponctuelles étant toutefois moins élevées". L'étude ne comporte aucune mention spécifique concernant l'exposition aux hormones présentes dans la viande d'animaux traités. En ce qui concerne l'hypothèse proposée par Kaisjer *et al.* (2001), le risque d'une telle exposition dépendrait du mode d'action et de la relation dose-réponse. Une étude récente (*de Assis et al., 2006*) donne à entendre qu'un poids plus élevé à la naissance peut, en soi, augmenter le risque de cancer du sein. Toutefois, la validité pour l'homme de cette étude, réalisée sur des animaux de laboratoire, reste à déterminer. Étant donné que l'exposition à l'œstradiol provenant de la viande d'animaux traités serait extrêmement faible, en particulier par rapport aux concentrations d'hormone endogène, qui augmentent au cours de la grossesse (voir par exemple *Weiss, 2000*), les constatations de l'étude de Kaisjer *et al.* ne fournissent aucune preuve du risque découlant de l'exposition à des résidus d'œstradiol présents dans la viande d'animaux traités.

De Assis S, Khan G et Hilakivi-Clarke L (2006). High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer (sous presse).

Kajser M, Lichtenstein P, Granath F, Erlandsson G, Cnattingius S et Ekblom A (2001). In utero exposures and breast cancer: a study of opposite-sexed twins. J Natl Cancer Inst, 93:60-62.

Weiss G (2000). Endocrinology of parturition. J Clin Endocrinol Metab, 85:4421-4425.

492. Dans l'ensemble, on ne peut pas dire que cette étude confirme que la consommation de viande issue d'animaux traités au moyen de ces hormones présente un risque pour la santé des personnes.

Étude rétrospective concernant les effets à long terme d'une exposition présumée à de la viande contaminée par des œstrogènes sur les enfants

493. Cet article (*Chiumello et al., 2001*; étude n° 12) examine l'incidence accrue de gynécomastie chez des enfants mâles qui a été observée pendant une période déterminée dans une école de Milan (Italie). Tenant compte du fait que l'œstradiol est un facteur connu de gynécomastie, les auteurs ont émis l'hypothèse que des œstrogènes, provenant peut-être de la viande d'animaux traités, avaient pu jouer le rôle d'agents responsables de ces effets. Toutefois, cette explication relève entièrement de la conjecture dès lors qu'il n'a été obtenu aucune donnée indiquant qu'une exposition de cette sorte aurait pu se produire. En outre, il n'a même pas été possible d'établir si des œstrogènes étaient impliqués, puisqu'il existe de nombreux autres facteurs de risque de la gynécomastie. De fait, le CSMVSP (2002) a conclu en ces termes: "Étant donné que l'on ne connaît toujours pas la cause de cet incident, la pertinence de ces données demeure incertaine."

Chiumello G, Guarneri MP, Russo G, Stroppa L et Sgarbetta P (2001). Accidental gynecomastia in children. APMIS 109 (Suppl 103): S203-S209

494. Dans l'ensemble, on ne peut pas dire que cette étude confirme que la consommation de viande issue d'animaux traités au moyen de ces hormones présente un risque pour la santé des personnes.

Conclusion sur les preuves apportées par les études engagées depuis 1997

495. Peu de renseignements corroborent l'assertion selon laquelle les études scientifiques entreprises par les CE depuis 1997 ont permis de détecter de nouvelles et importantes lacunes, insuffisances et contradictions dans les données scientifiques et les connaissances relatives aux hormones, et qu'il est nécessaire de procéder à de nouvelles études avant de pouvoir évaluer les risques sanitaires liés à la consommation de bovins traités. Bien que des données additionnelles

concernant un certain nombre d'aspects des hormones en question aient été obtenues, elles sont souvent peu concluantes, manquent parfois de pertinence et, dans certains cas, confirment ou développent des connaissances préalables. Les données obtenues n'ont permis de découvrir aucun nouveau motif de préoccupation concernant le risque d'exposition aux résidus d'hormones dans la viande de bovins traités à des fins anabolisantes.

496. Ma réponse aurait été la même au moment de l'adoption de la directive des CE, en septembre 2003.

M. Guttenplan

497. Oui, j'observe plusieurs lacunes importantes. Par exemple:

498. On ne sait pas si la consommation de viande provenant de bovins traités aux hormones fait augmenter de façon notable les concentrations sanguines d'œstrogène/œstrone chez les enfants prépubères. Ce point pourrait certainement faire l'objet d'une recherche.

499. On ne sait pas si la consommation de viande provenant de bovins traités aux hormones fait augmenter de façon notable le niveau d'activité œstrogène dans le sang.

- Des expériences sur l'identification, la quantification, la biodisponibilité et l'accumulation des esters lipoïdiques des œstrogènes chez l'homme et les animaux de laboratoire devraient être réalisées.
- Il n'a pas été signalé d'enquête épidémiologique comparant les effets néfastes sur des populations appariées d'enfants consommant de la viande de bovins traités aux hormones et d'enfants consommant de la viande de bovins non traités.

[Voir les références suivantes pour les deux questions ci-dessus:

- **paragraphes 58 à 94 et 125 à 129 de la première présentation des États-Unis, paragraphes 28 à 32 de la communication des États-Unis présentée à titre de réfutation;**
- **paragraphes 116 à 124 de la première présentation du Canada, paragraphe 74 et paragraphes 130 à 135 de la communication du Canada présentée à titre de réfutation (pièce CDA-23);**
- **paragraphes 108 et 147, paragraphes 162 à 169 des réponses des CE aux questions posées par le Groupe spécial, paragraphes 143 à 174 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant les États-Unis), et paragraphes 148 à 166 de la communication des CE présentée à titre de réfutation (affaire concernant le Canada);**
- **la pièce CDA-32 fournit un tableau détaillé exposant les grandes lignes de la chronologie de l'évaluation de ces hormones par le JECFA, ainsi que la documentation générée.]**

APPENDICE 1

Références mentionnées dans les réponses de M. Boobis

Absorption Systems (2006). Glossary Terms
(<http://www.absorption.com/Site/Glossary/Default.aspx>)

Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E et Vergote I (2005). Endometrial cancer. *Lancet*, 366:491-505

Arai T, Kelly VP, Minowa O, Noda T et Nishimura S (2006). The study using wild-type and Ogg1 knockout mice exposed to potassium bromate shows no tumor induction despite an extensive accumulation of 8-hydroxyguanine in kidney DNA. *Toxicology* 221:179-186

Barton HA et Clewell HJ 3rd (2000). Evaluating noncancer effects of trichloroethylene: dosimetry, mode of action, and risk assessment. *Environ Health Perspect*, 108 (Suppl 2):323-334

Beets G (1999). Education and age at first birth. *DEMOS*, 15 (numéro spécial)

Beral V (2003). Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*, 362:419-427. Erratum in: *Lancet*, 2003, 362:1160

Bianco NR, Perry G, Smith MA, Templeton DJ et Montano MM. Functional implications of antiestrogen induction of quinone reductase: inhibition of estrogen-induced deoxyribonucleic acid damage (2003). *Mol Endocrinol* 17:1344-1355

Brusick D (2005). Analysis of genotoxicity and the carcinogenic mode of action for ortho-phenylphenol. *Environ Mol Mutagen*, 45:460-481

Bureau européen des substances chimiques (2006). European Union Risk Assessment Report on phenol. CAS No. 108-95-2. EINECS No. 203-632-7. 1st Priority List, Volume 64. EUR 22229 EN

Caruso-Nicoletti M, Cassorla F, Skerda M, Ross JL, Loriaux DL et Cutler GB Jr (1985). Short term, low dose estradiol accelerates ulnar growth in boys. *J Clin Endocrinol Metab*, 61:896-898

CCRVDF (1998). Rapport de la onzième session du Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments, 15-18 septembre 1998, Washington, DC: Alinorm 99/31 (<http://www.fao.org/docrep/meeting/005/X0203E/x0203e00.htm#Contents>)

CCRVDF (2000). Rapport de la douzième session du CCRVDF (ALINORM 01/31) Washington, D.C., 28-31 mars 2000
(http://www.codexalimentarius.net/download/report/217/Al01_31e.pdf)

CCRVDF (2005). Méthodologies de gestion des risques, y compris les politiques d'évaluation des risques, au sein du Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments
(ftp://ftp.fao.org/codex/Ccrvdf16/rv16_10e.pdf)

CE (2005a). Journal officiel L 241, 17 septembre 2005, pages 0051 à 0056

CE (2005b). Règlement (CE) n° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les

denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil
(http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/en/oj/2005/l_070/l_07020050316en00010016.pdf)

CEE (1990). Règlement du Conseil (CEE) n° 2377/90 du 26 juin 1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. JO L 224 du 18 août 1990, pages 1 à 8

Chakravarti D, Mailander PC, Li KM, Higginbotham S, Zhang HL, Gross ML, Meza JL, Cavalieri EL et Rogan EG (2001). Evidence that a burst of DNA depurination in SENCAR mouse skin induces error-prone repair and forms mutations in the H-ras gene. *Oncogene*, 20:7945-7953

ChemIDPlus Advanced, National Library of Medicine
(<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>)

Chen ZH, Na HK, Hurh YJ et Surh YJ (2005). 4-Hydroxyestradiol induces oxidative stress and apoptosis in human mammary epithelial cells: possible protection by NF-kappaB and ERK/MAPK. *Toxicol Appl Pharmacol*, 208:46-56

Chiumello G, Guarneri MP, Russo G, Stroppa L et Sgaramella P (2001). Accidental gynecomastia in children. *APMIS* 109 (Suppl 103): S203-S209

Christiaens V, Berckmans P, Haelens A, Witters H et Claessens F (2005). Comparison of different androgen bioassays in the screening for environmental (anti)androgenic activity. *Environ Toxicol Chem*, 24:2646-2656

CIRC (Centre international de recherche sur le cancer) (1999). Monographies du CIRC sur l'évaluation des risques de cancérogénicité pour l'homme, volume 72. Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy, CIRC, Lyon, France

CIRC (Centre international de recherche sur le cancer) (2002). GLOBOCAN
(<http://www-dep.iarc.fr/>)

CIPR (2003). The evolution of the system of radiological protection: the justification for the new ICRP recommendations. *J Radiol Prot*, 23:129-142

Coldham NG, Dave M, Sivapathasundaram S, McDonnell DP, Connor C et Sauer MJ (1997). Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. *Environ Health Perspect*, 105:734-742

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (1996). Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet*, 347:1713-1727

Colli JL et Colli A (2006). International comparisons of prostate cancer mortality rates with dietary practices and sunlight levels. *Urol Oncol*, 24:184-194

Commission du Codex Alimentarius (2005). Manuel de procédure, quinzième édition, OMS et FAO, Rome, Italie
(ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_15e.pdf)

Commission économique des Nations Unies pour l'Europe (2003). Trends in Europe and North America

Coombs NJ, Taylor R, Wilcken N, Fiorica J et Boyages J (2005). Hormone replacement therapy and breast cancer risk in California. *Breast J*, 11:410-415

Cross AJ, Pollock JR, Bingham SA (2003). Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. *Cancer Res*, 63:2358-2360

CSAH (Comité scientifique de l'alimentation humaine) (2000). Guidelines for the development of tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. SCF/CS/NUT/UPPLEV/11 Final (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out80a_en.pdf)

CSAH (Comité scientifique de l'alimentation humaine) (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin D. SCF/CS/NUT/UPPLEV/38 Final (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out157_en.pdf)

CSMVSP (1999). Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health: Assessment of potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out21_en.pdf)

CSMVSP (2002). Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health: Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out50_en.pdf)

Cuendet M, Liu X, Pisha E, Li Y, Yao J, Yu L et Bolton JL (2004). Equine estrogen metabolite 4-hydroxyequilenin induces anchorage-independent growth of human mammary epithelial MCF-10A cells: differential gene expression. *Mutat Res*, 550:109-121

CVMP (1999). Report of the CVMP on the Safety Evaluation of Steroidal Sex Hormones in particular for 17 β -Oestradiol, Progesterone, Altrenogest, Flugestone acetate and Norgestomet in the Light of New Data/Information made available by the European Commission. EMEA/CVMP/885/99 (<http://www.emea.eu.int/pdfs/vet/srwp/088599en.pdf>)

CVMP (2004). Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food: Genotoxicity Testing, European Medicines Agency, London

Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., et Van der Kraak, G. (2002). Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. WHO publication no. WHO/PCS/EDC/02.2. Organisation mondiale de la santé, Genève, Suisse.

Daxenberger A, Lange IG, Meyer K, Meyer HH, Daxenberger A, Lange IG, Meyer K et Meyer HH (2000). Detection of anabolic residues in misplaced implantation sites in cattle. *J AOAC Int*, 83:809-819

Daxenberger A, Meyer K, Hageleit M et Meyer HH (1999). Detection of melengestrol acetate residues in plasma and edible tissues of heifers. *Vet Q*, 21:154-158

de Assis S, Khan G et Hilakivi-Clarke L (2006). High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. *Int J Cancer* (sous presse)

Dip R, Camenisch U, Naegeli H (2004). Mechanisms of DNA damage recognition and strand discrimination in human nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst)*, 3:1409-1423

EMBL-EBI (European Bioinformatics Centre) ChEBI (Chemical Entities of Biological Interest) (<http://www.ebi.ac.uk/chebi/>)

EMA (2005). Volume 8: Notice to applicants and Guidance: Veterinary medicinal products. Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin (http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-8/pdf/vol8_10-2005_.pdf)

FAO (2000). Procédures pour recommander des limites maximales de résidus – Résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (1987-1999)

FAO (2002). Règles de procédure pour le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

FAO (2003). FAOSTAT (<http://faostat.fao.org/>)

FAO (2006). Updating the Principles and Methods of Risk Assessment: MRLs for Pesticides and Veterinary Drugs, Rome, Italie (http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/DOWNLOAD/bilthoven_2005.pdf)

Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Cecchini RS, Cronin WM, Robidoux A, Bevers TB, Kavanah MT, Atkins JN, Margolese RG, Runowicz CD, James JM, Ford LG et Wolmark N (2005). Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. *J Natl Cancer Inst*, 97:1652-1662

Fischer WH, Keiwan A, Schmitt E et Stopper H (2001). Increased formation of micronuclei after hormonal stimulation of cell proliferation in human breast cancer cells. *Mutagenesis*, 16:209-212

Folmar LC, Hemmer MJ, Denslow ND, Kroll K, Chen J, Cheek A, Richman H, Meredith H et Grau EG (2002). A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor in vivo and in vitro. *Aquat Toxicol*, 60:101-110

Fotherby K (1996). Bioavailability of orally administered sex steroids used in oral contraception and hormone replacement therapy. *Contraception*, 54:59-69

Gonzalez CA (2006). The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr*, 9:124-126.

Greenwood SK, Hill RB, Sun JT, Armstrong MJ, Johnson TE, Gara JP, Galloway SM (2004). Population doubling: a simple and more accurate estimation of cell growth suppression in the in vitro assay for chromosomal aberrations that reduces irrelevant positive results. *Environ Mol Mutagen* 43:36-44. Erratum in: *Environ Mol Mutagen*, 2004, 44:90

Henderson BE et Feigelson HS (2000). Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21:427-433

Hoogenboom LAP, de Haan L, Hooijerink D, Bor G, Murk AJ et Brouwer A (2001). Estrogenic activity of estradiol and its metabolites in the ER-CALUX assay with human T47D breast cells. *APMIS*, 109:101-107

Huetz P, Kamarulzaman EE, Wahab HA et Mavri J (2004). Chemical reactivity as a tool to study carcinogenicity: reaction between estradiol and estrone 3,4-quinones ultimate carcinogens and guanine. *J Chem Inf Comput Sci*, 44:310-314

Huffman JL, Sundheim O, Tainer JA (2005). DNA base damage recognition and removal: new twists and grooves. *Mutat Res*, 577:55-76

Hughes, C (1996). Are the differences between estradiol and other estrogens merely semantical? (Letter to the Editor). *J Clin Endocrinol Metab* 81:2405

Hunter DJ (1997). Methodological issues in the use of biological markers in cancer epidemiology: cohort studies. *IARC Sci Publ*, 142:39-46

Hurh YJ, Chen ZH, Na HK, Han SY et Surh YJ (2004). 2-Hydroxyestradiol induces oxidative DNA damage and apoptosis in human mammary epithelial cells. *J Toxicol Environ Health A*, 67:1939-153

Ikegami S, Moriwake T, Tanaka H, Inoue M, Kubo T, Suzuki S, Kanzakili S et Seino Y (2001). An ultrasensitive assay revealed age-related changes in serum oestradiol at low concentrations in both sexes from infancy to puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 55:789-795

IUPAC (1993). A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds, Blackwell Science, Oxford, UK

IUPAC (1997). Compendium of Chemical Terminology, 2nd Edition
(<http://www.iupac.org/publications/books/author/mcnaught.html>)

IUPAC (2003). Special Topic Issue on the Implications of Endocrine Active Substances for Humans and Wildlife, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 75, Nos. 11-12

JECFA (1988a). Évaluation toxicologique des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments: Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 23, OMS, Genève, Suisse

JECFA (1988b). Les résidus des médicaments vétérinaires dans la nourriture et les animaux, volume 41/1, FAO, Rome, Italie

JECFA (2000a). Les résidus des médicaments vétérinaires dans la nourriture et les animaux, Étude FAO Alimentation et Nutrition 41/13, FAO, Rome

JECFA (2000b). Évaluation toxicologique des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les aliments: Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 43, OMS, Genève, Suisse

JECFA (2002a). Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Polychlorinated Dibenzodioxins, Polychlorinated Dibenzofurans, and Coplanar Polychlorinated Biphenyls. Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 48, OMS, Genève

JECFA (2002b). Les résidus des médicaments vétérinaires dans la nourriture et les animaux, Étude FAO Alimentation et nutrition 41/14, Rome, Italie

JECFA (2004). Les résidus des médicaments vétérinaires dans la nourriture et les animaux, Étude FAO Alimentation et nutrition 41/16, FAO, Rome

JECFA (2006a). Summary and Conclusions of Sixty-sixth meeting (Residues of veterinary drugs), Rome, 22-28 février 2006
(<http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/summary66.pdf>)

JECFA (2006b). Evaluation of Certain Food Contaminants. Série de rapports sur les additifs alimentaires de l'OMS 930, OMS, Genève

JECFA (2006c). Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO, Rome, Italie (sous presse)

Jockenhövel F (2002). Practical aspects of testosterone substitution. *Aging Male*, 5 (Suppl 1):21-46

Kaijser M, Lichtenstein P, Granath F, Erlandsson G, Cnattingius S et Ekblom A (2001). In utero exposures and breast cancer: a study of opposite-sexed twins. *J Natl Cancer Inst*, 93:60-62

Kirkland D, Aardema M, Henderson L, Muller L. Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity (2005). *Mutat Res* 584:1-256. Erratum in: *Mutat Res*, 2005, 588:70

Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP et Cutler GB Jr (1994). Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. *J Clin Invest*, 94:2475-2480

Klein KO, Baron J, Barnes KM, Pescovitz OH et Cutler GB Jr (1998). Use of an ultrasensitive recombinant cell bioassay to determine estrogen levels in girls with precocious puberty treated with a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *J Clin Endocrinol Metab*, 83:2387-2389

Kroes R, Renwick AG, Cheeseman M, Kleiner J, Mangelsdorf I, Piersma A, Schilter B, Schlatter J, van Schothorst F, Vos JG et Wurtzen G; European branch of the International Life Sciences Institute (2004). Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food Chem Toxicol*, 42:65-83

Kuhn W, Gansau C et Mahler M (1993). Pharmacokinetics of estradiol, free and total estrone, in young women following single intravenous and oral administration of 17 beta estradiol. *Arzneimittelforschung (Drug Res)*, 9:966-973

Kushi L et Giovannucci E (2002). Dietary fat and cancer. *Am J Med*, 113, Suppl 9B:63S-70S

Lange IG, Daxenberger A et Meyer HH (2001). Hormone contents in peripheral tissues after correct and off-label use of growth promoting hormones in cattle: effect of the implant preparations Filaplix-H, Raglo, Synovex-H and Synovex Plus. *APMIS*, 109:53-65

Lange IG, Daxenberger A, Meyer HH, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE et Veeramachaneni DN (2002). Quantitative assessment of foetal exposure to trenbolone acetate, zeranol and melengestrol acetate, following maternal dosing in rabbits. *Xenobiotica*, 32:641-651

Larsen JC et Richold M (199). Report of workshop on the significance of excursions of intake above the ADI. *Regul Toxicol Pharmacol*, 30:S2-12

Le Guevel R et Pakdel F (2001). Assessment of oestrogenic potency of chemicals used as growth promoter by in-vitro methods. *Hum Reprod*, 16:1030-1036

Leffers H, Naesby M, Vendelbo B, Skakkebaek NE et Jorgensen M (2001). Oestrogenic potencies of Zeranol, oestradiol, diethylstilboestrol, Bisphenol-A and genistein: implications for exposure assessment of potential endocrine disrupters. *Hum Reprod*, 16:1037-1045

Lin PH, Nakamura J, Yamaguchi S, Asakura S et Swenberg JA (2003). Aldehydic DNA lesions induced by catechol estrogens in calf thymus DNA. *Carcinogenesis* 24:1133-1141

Lintelmann J, Katayama A, Kurihara N, Shore L, et Wenzel A (2003). Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report) Pure Appl Chem, 75, 631-681

Liu S et Lin YC (2004). Transformation of MCF-10A human breast epithelial cells by zeranol and estradiol-17beta. Breast J, 10:514-521

Martindale: The Complete Drug Reference (2006), Pharmaceutical Press, London

Marques-Vidal P, Ravasco P et Ermelinda Camilo M (2006). Foodstuffs and colorectal cancer risk: a review. Clin Nutr, 25:14-36

Mashchak CA, Lobo RA, Dozono-Takano R, Eggena P, Nakamura RM, Brenner PF et Mishell DR Jr (1986). Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. Am J Obstet Gynecol, 144:511-518

Maume D, Deceuninck Y, Pouponneau K, Paris A, Le Bizec B et Andre F (2001). Assessment of estradiol and its metabolites in meat. APMIS, 109:32-38

Metzler M et Pfeiffer E (2001). Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS, 109:89-95

Miyamoto J et Burger J (Editors) (2003). Special Topic Issue on the Implications of Endocrine Active Substances for Humans and Wildlife. Pure Appl Chem, 75: 1617-2615

Modan B (1977). Role of diet in cancer etiology. Cancer, 40 (4 Suppl):1887-1891

Morgenstern H (1995). Ecologic studies in epidemiology: concepts, principles, and methods. Annu Rev Public Health, 16:61-81

National Library of Medicine, Genetics Home Reference
(<http://ghr.nlm.nih.gov/ghr/glossary/Glossary>)

National Library of Medicine (1993). Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology (<http://www.sis.nlm.nih.gov/enviro/glossarymain.html>); Pure Appl Chem, 1993, 65, 2003-2122

Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San Joaquin M, Hemon B, Saracci R, Kaaks R et Riboli E (2005). Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst, 97:906-916

OMS (1996). Guidelines for the preparation of toxicological working papers for the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

OMS (2001). Procedural guidelines for the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

Paris A, Goutal I, Richard J, Becret A et Gueraud F (2001). Uterotrophic effect of a saturated fatty acid 17-ester of estradiol-17beta administered orally to juvenile rats. APMIS, 109:365-375

Paris F, Servant N, Terouanne B, Balaguer P, Nicolas JC et Sultan C (2002). A new recombinant cell bioassay for ultrasensitive determination of serum estrogenic bioactivity in children. *J Clin Endocrinol Metab*, 87:791-797

PISC (1987). Critères d'hygiène de l'environnement (EHC) n° 70: Principles For The Safety Assessment Of Food Additives And Contaminants In Food, OMS, Genève, Suisse

PISC (1990). Critères d'hygiène de l'environnement (EHC) n° 104: Principles For The Toxicological Assessment of Pesticide Residues In Food, OMS, Genève, Suisse

PISC (2003). Toxicogenomics and the Risk Assessment of Chemicals for the Protection of Human Health
(<http://www.who.int/entity/ipcs/methods/en/toxicogenomicssummaryreport.pdf>)

PISC (2004). Risk Assessment Terminology, OMS, Genève
(<http://www.iseaweb.org/ipcsterminologyparts1and2.pdf>)

PISC (2005). Draft ECH, Principles for Modelling Dose-Response for the Risk Assessment of Chemicals, OMS, Genève, Suisse
(http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/draft_document_for_comment.pdf)

Pollycove M et Feinendegen LE (1999). Molecular biology, epidemiology, and the demise of the linear no-threshold (LNT) hypothesis. *C R Acad Sci III*, 322:197-204

PPR (2004). Opinion of the PPR Panel related to the evaluation of daminozide in the context of Council Directive 91/414/EEC (May 2004)
(http://www.efsa.eu.int/science/ppr/ppr_opinions/453_en.html; Official Journal L 241, 17/09/2005 P. 0051 – 0056)

PubChem, National Library of Medicine (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Rieck G et Fiander A (2006). The effect of lifestyle factors on gynaecological cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 20:227-251

Robert SA, Strombom I, Trentham-Dietz A, Hampton JM, McElroy JA, Newcomb PA et Remington PL (2004). Socioeconomic risk factors for breast cancer: distinguishing individual- and community-level effects. *Epidemiology*, 15:442-450

Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM et Ockene J; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators (2002). Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 288:321-333

Rowland M et Tozer T (1995). *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications*, Lippincott Williams and Wilkins, London

Russo MT, De Luca G, Degan P, Parlanti E, Dogliotti E, Barnes DE, Lindahl T, Yang H, Miller JH et Bignami M (2004). Accumulation of the oxidative base lesion 8-hydroxyguanine in DNA of tumor-prone mice defective in both the Myh and Ogg1 DNA glycosylases. *Cancer Res* 64:4411-4414

Russo J, Lareef MH, Tahin Q, Hu YF, Slater C, Ao X et Russo IH(2002). 17Beta-estradiol is carcinogenic in human breast epithelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 80:149-16

- Sharova NP (2005). How does a cell repair damaged DNA? *Biochemistry (Mosc)*, 70:275-291
- Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86:9697-9701
- Shirai T, Asamoto M, Takahashi S et Imaida K (2002). Diet and prostate cancer. *Toxicology*, 181-182:89-94
- Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A (2002). Something from "nothing"--eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environ Sci Technol*, 36:1751-1756
- Sinha R, Peters U, Cross AJ, Kulldorff M, Weissfeld JL, Pinsky PF, Rothman N et Hayes RB (2005). Meat, meat cooking methods and preservation, and risk for colorectal adenoma. *Cancer Res*, 65:8034-8041
- Society for Risk Assessment (2004). Glossary of Risk Analysis Terms.
(http://www.sra.org/resources_glossary.php)
- Stanczyk FZ (2003). All progestins are not created equal. *Steroids*, 68:879-890
- Stedman's Medical Dictionary (2000), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA
- Stopper H, Schmitt E, Gregor C, Mueller SO et Fischer WH (2003). Increased cell proliferation is associated with genomic instability: elevated micronuclei frequencies in estradiol-treated human ovarian cancer cells. *Mutagenesis*, 18:243-247
- Syme MR, Paxton JW et Keelan JA (2004). Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet*, 43:487-514
- Taber's Cyclopedic Medical Dictionary - 20th Ed (2005), F. A. Davis Company, Philadelphia, PA
- Teeguarden JG et Barton HA (2004). Computational modeling of serum-binding proteins and clearance in extrapolations across life stages and species for endocrine active compounds. *Risk Anal*, 24:751-770
- The Columbia Electronic Encyclopedia (2003), Sixth Edition, Columbia University Press, New York City, NY
- Tilli MT, Frech MS, Steed ME, Hruska KS, Johnson MD, Flaws JA et Furth PA (2003). Introduction of estrogen receptor-alpha into the tTA/TAg conditional mouse model precipitates the development of estrogen-responsive mammary adenocarcinoma. *Am J Pathol*, 163:1713-1719
- Toledano MB, Nieuwenhuijsen MJ, Best N, Whitaker H, Hambly P, de Hoogh C, Fawell J, Jarup L et Elliott P (2005). Relation of trihalomethane concentrations in public water supplies to stillbirth and birth weight in three water regions in England. *Environ Health Perspect*, 113:225-232
- UK Committee on Carcinogenicity (2004). Guidance on a Strategy for the Risk Assessment of Chemical Carcinogens, Department of Health, London
(<http://www.advisorybodies.doh.gov.uk/COC/guideline04.pdf>)
- US FDA, Guideline No. 3 (2005). General Principles for Evaluating the Safety of Compounds Used in Food-Producing Animals

(<http://www.fda.gov/cvm/Guidance/GFI003.htm>)

US EPA Office of Pesticide Programs (2001). General Principles For Performing Aggregate Exposure And Risk Assessments

(<http://www.epa.gov/pesticides/trac/science/aggregate.pdf>)

US EPA (2002). Organophosphate Pesticides: Revised Cumulative Risk Assessment

(<http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/rra-op/>)

US EPA (2005). Guidelines for Carcinogen Risk Assessment

(http://oaspub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=439797)

Vogel VG et Taioli E (2006). Have we found the ultimate risk factor for breast cancer? J Clin Oncol, 24:1791-1794

VUT (2006). Draft report of the Working Group on Variation and Uncertainty in Toxicology

(<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/vutdraftreport.pdf>)

Wakai K, Tamakoshi K, Date C, Fukui M, Suzuki S, Lin Y, Niwa Y, Nishio K, Yatsuya H, Kondo T, Tokudome S, Yamamoto A, Toyoshima H et Tamakoshi A; JACC Study Group (2005). Dietary intakes of fat and fatty acids and risk of breast cancer: a prospective study in Japan. Cancer Sci, 96:590-599

Weiss G (2000). Endocrinology of parturition. J Clin Endocrinol Metab, 85:4421-4425

Wilkinson CF, Christoph GR, Julien E, Kelley JM, Kronenberg J, McCarthy J et Reiss R (2000). Assessing the risks of exposures to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: how to cumulate? Regul Toxicol Pharmacol, 31:30-43

Williams GM, Iatropoulos MJ et Jeffrey AM (2004). Thresholds for the effects of 2-acetylaminofluorene in rat liver. Toxicol Pathol, 32, Suppl 2:85-9

Wooster R et Weber BL (2003), Breast and ovarian cancer, N Engl J Med 348:2339–2347

Yagi E, Barrett JC et Tsutsui T (2001). The ability of four catechol estrogens of 17beta-estradiol and estrone to induce DNA adducts in Syrian hamster embryo fibroblasts. Carcinogenesis, 22:1505-1510

APPENDICE 2

Références mentionnées dans les réponses de M. Sippell

- Andersson AM & Skakkebaek NE (1999) Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact on human development and health. *Eur. J. Endocrinol.* 140, 477-485
- Bauer ER, Daxenberger A, Petri T, Sauerwein H & Meyer HH (2000) Characterisation of the affinity of different anabolics and synthetic hormones to the human androgen receptor, human sex hormone binding globulin and to the bovine progesterin receptor. *APMIS* 108, 838-846
- Daxenberger A, Ibarreta D & Meyer HH (2001) Possible health impact of animal oestrogens in food. *Hum. Reprod. Update.* 7, 340-355
- Ekbom A, Hsieh CC, Lipworth L, Adami HQ & Trichopoulos D (1997) Intrauterine environment and breast cancer risk in women: a population-based study. *J. Natl. Cancer Inst.* 89, 71-76
- Felner EI & White PC (2000) Prepubertal gynecomastia: indirect exposure to estrogen cream. *Pediatrics* 105, E55
- Halakivi-Clarke L, Cho E, Onojafe I, Liao DJ & Clarke R (2000) Maternal exposure to tamoxifen during pregnancy increases carcinogen-induced mammary tumorigenesis among female rat offspring. *Clin. Cancer Res.* 6, 305-308
- Higuchi TT, Palmer JS, Gray LE, Jr. & Veeramachaneni DN (2003) Effects of dibutyl phthalate in male rabbits following in utero, adolescent, or postpubertal exposure. *Toxicol. Sci.* 72, 301-313
- Innes KE & Byers TE (1999) Preeclampsia and breast cancer risk. *Epidemiology* 10, 722-732
- Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP & Cutler GB, Jr. (1994) Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. *J. Clin. Invest* 94, 2475-2480
- Lampit M, Golander A, Guttman H & Hochberg Z (2002) Estrogen mini-dose replacement during GnRH agonist therapy in central precocious puberty: a pilot study. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 87, 687-690
- Larmore KA, O'Connor D, Sherman TI, Funanage VL, Hassink SG & Klein KO (2002) Leptin and estradiol as related to change in pubertal status and body weight. *Med. Sci. Monit.* 8, CR206-CR210
- Leffers H, Naesby M, Vendelbo B, Skakkebaek NE & Jorgensen M (2001) Oestrogenic potencies of Zeranol, oestradiol, diethylstilboestrol, Bisphenol-A and genistein: implications for exposure assessment of potential endocrine disrupters. *Hum. Reprod.* 16, 1037-1045
- Maume D, Deceuninck Y, Pouponneau K, Paris A, Le Bizec B & Andre F (2001) Assessment of estradiol and its metabolites in meat. *APMIS* 109, 32-38
- Muinck-Keizer SM & Mul D (2001) Trends in pubertal development in Europe. *Hum. Reprod. Update.* 7, 287-291
- Paris F, Servant N, Terouanne B, Balaguer P, Nicolas JC & Sultan C (2002) A new recombinant cell bioassay for ultrasensitive determination of serum estrogenic bioactivity in children. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 87, 791-797

Partsch CJ & Dr. Sippell WG (2001) Pathogenesis and epidemiology of precocious puberty. Effects of exogenous oestrogens. *Hum. Reprod. Update.* 7, 292-302

Ramaswamy S (2005) Pubertal augmentation in juvenile rhesus monkey testosterone production induced by invariant gonadotropin stimulation is inhibited by estrogen. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 90, 5866-5875

Schmidt IM, Chellakooty M, Haavisto AM, Boisen KA, Damgaard IN, Steendahl U, Toppari J, Skakkebaek NE & Main KM (2002) Gender difference in breast tissue size in infancy: correlation with serum estradiol. *Pediatr. Res.* 52, 682-686

Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E & Main KM (2001) Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum. Reprod.* 16, 972-978

Sun SS, Schubert CM, Chumlea WC, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH & Ryan AS (2002) National estimates of the timing of sexual maturation and racial differences among US children. *Pediatrics* 110, 911-919

Swerdlow AJ, De Stavola BL, Swanwick MA & Maconochie NE (1997) Risks of breast and testicular cancers in young adult twins in England and Wales: evidence on prenatal and genetic aetiology. *Lancet* 350, 1723-1728

Teilmann G, Pedersen CB, Jensen TK, Skakkebaek NE & Juul A (2005) Prevalence and incidence of precocious pubertal development in Denmark: an epidemiologic study based on national registries. *Pediatrics* 116, 1323-1328

Weiss HA, Potischman NA, Brinton LA, Brogan D, Coates RJ, Gammon MD, Malone KE & Schoenberg JB (1997) Prenatal and perinatal risk factors for breast cancer in young women. *Epidemiology* 8, 181-187

Wu T, Mendola P & Buck GM (2002) Ethnic differences in the presence of secondary sex characteristics and menarche among US girls: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Pediatrics* 110, 752-757
