

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Décembre 2019

Dispositif de surveillance des promoteurs de croissance pour les années 2015 et 2016

Stéphanie Prévost⁽¹⁾, Audrey Poirier⁽¹⁾, Gaud Dervilly-Pinel⁽¹⁾, Bruno Le Bizec⁽¹⁾, Patrice Chasset⁽²⁾

*Auteur correspondant : stephanie.prevost@oniris-nantes.fr

(1) Oniris, Laboratoire d'étude des résidus et contaminants dans les aliments (LABERCA), Laboratoire national de référence pour les promoteurs de croissance et contaminants environnementaux organiques, LUNAM Université, Nantes, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Service de la gouvernance et de l'international dans les domaines sanitaire et alimentaire, Sous-direction du pilotage des ressources et des actions transversales, Bureau du management par la qualité et de la coordination des contrôles, Paris, France.

Résumé

L'utilisation des promoteurs de croissance est interdite en élevage au sein de l'Union européenne depuis 1988. Afin de garantir au consommateur des denrées exemptes de résidus de ce type de substances, un dispositif européen de contrôle accompagne cette mesure, qui, en France, est organisé depuis 1988 dans le cadre des plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC) mis en place par la Direction générale de l'alimentation. Le présent article rappelle le cadre réglementaire, les modalités de mise en œuvre en termes de composés d'intérêt, d'espèces animales concernées, de matrices biologiques pertinentes et de stratégies analytiques adaptées. Plus particulièrement, cet article décrit le dispositif général de surveillance actualisé par les données issues des plans 2015 et 2016.

Mots-clés:

Promoteurs de croissance, plans de surveillance, dépistage, confirmation, spectrométrie de masse

Abstract

Surveillance of growth promoters in 2015 and 2016

The use of growth promoters in cattle rearing has been forbidden within the European Union since 1988. In order to guarantee to the consumers that foodstuffs are free from residues of this type of substances, a European monitoring and control system accompanies this measure, which, in France, has been organised since 1988 within the framework of the monitoring and control plans (PSPC) implemented by the General directorate for food. Besides describing its regulatory framework, the implementation modalities in terms of compounds of interest, animal species concerned, relevant biological matrices and appropriate analytical strategies, this paper provide an up-date of the system based on 2015 and 2016 data.

Keywords:

Growth promoters, monitoring plan, screening, confirmation, mass spectrometry

Introduction

Les promoteurs ou facteurs de croissance se définissent comme des substances anabolisantes permettant d'accroître la masse musculaire de l'individu destinataire, à des fins d'amélioration de performance physique et/ou économique.

De tout temps, l'homme a cherché à améliorer ses performances par des moyens artificiels. Les premières notions de dopage datent de l'Antiquité (l'Iliade et l'Odyssée). Dès le VI^e siècle avant J.-C., les athlètes grecs ingéraient déjà des **viandes** variées selon la discipline sportive qu'ils exerçaient: les sauteurs mangeaient de la viande de chèvre; les boxeurs et les lanceurs, de la viande de taureau; les lutteurs quant à eux préféraient la viande grasse de porc.

La notion de dopage en élevage est bien plus récente et les premiers scandales sur son utilisation apparaissent au XX^e siècle. Les stimulants de croissance ou leurs dérivés synthétiques sont alors utilisés pour améliorer la conversion alimentaire des animaux et ainsi leur croissance. Par ce traitement, les animaux se développent plus vite, avec la même quantité d'aliment.

Dans un premier temps, des hormones synthétiques bon marché, tel le diéthylstilbestrol (DES) alors utilisé en médecine humaine, ont été administrées aux animaux. Après les différents scandales et les réactions très vives des consommateurs en raison des risques sanitaires associés, d'autres hormones ont été utilisées, notamment:

- des hormones sexuelles (testostérone, oestradiol, progestérone),

- des hormones stéroïdiennes de synthèse (acétate de trenbolone),
- des antithyroïdiens de synthèse (thiouracile),
- des β -agonistes analogues de l'adrénaline (agonistes β 2-adrénérgiques) (clenbutérol),
- l'hormone de croissance hypophysaire (somatotropine).

Les concentrations utilisées étant très faibles et ne conduisant pas à des résidus en quantité supérieure à celle d'animaux non traités dans le cas des hormones naturelles, le débat s'est alors focalisé sur les questions éthiques. Cependant, les résidus font toujours l'objet de rapports très controversés, les partisans prouvant l'innocuité des traitements et les adversaires arguant que les données sont insuffisantes.

Aux USA, au Canada et dans d'autres pays, les producteurs utilisent ces stimulants pour trois raisons principales : améliorer la qualité de la viande (en effet, les animaux produisent plus de viande maigre au détriment du gras) ; améliorer l'efficacité de l'alimentation (on obtient ainsi un poids supérieur avec moins d'aliments) ; réduire les coûts de production.

Références réglementaires

Au sein de l'Union européenne, l'utilisation des promoteurs de croissance en élevage est régie par un cadre réglementaire dont l'application est surveillée grâce à un dispositif de contrôle harmonisé au niveau européen. Celui-ci consiste en une détection et une identification d'éventuels résidus de ces substances ou de leurs marqueurs dans des matrices animales ou d'origine animale.

L'utilisation de stéroïdes et thyrostatiques est prohibée en élevage depuis 1988 (Directive 88/146/CEE). Cette législation a évolué au fil des années et s'est traduite en 1996 par un dispositif réglementaire qui encadre l'utilisation en élevage des substances à effet hormonal (œstrogènes, androgènes, progestagènes), ou thyrostatique, ainsi que les substances β -agonistes : directive 96/22/CE, modifiée par les directives 2003/74/CE et 2008/97/CE où les substances sont listées en annexe II.

L'utilisation de l'hormone de croissance est, quant à elle, interdite en Europe depuis 1990 (Décision 1990/218/CEE, suivie d'un moratoire (Décision 1994/936/CE) prolongé depuis 1999 par la décision 1999/879/CE).

Les premiers contrôles de l'utilisation frauduleuse de ces substances ont été cadrés par la directive 85/358/CEE, aujourd'hui abrogée. Cette législation a évolué en parallèle de la législation sur l'utilisation des promoteurs de croissance et s'est traduite en 1996 par la directive 96/23/CE qui, outre le contrôle de l'utilisation frauduleuse de promoteurs de croissance, englobe et harmonise la surveillance et le contrôle de tous les types de résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale dont le danger pour la santé humaine est avéré ou potentiel (résidus de médicaments vétérinaires et contaminants environnementaux). Elle met en avant l'obligation de désignation des laboratoires nationaux de référence et leur rôle fondamental dans l'animation des réseaux de laboratoires pour la réalisation des analyses officielles. Elle est complétée par :

- la décision 97/747/CE qui fixe le niveau et la fréquence d'échantillonnage pour certaines filières ;
- la décision 98/179/CE qui fixe les modalités d'échantillonnage officiel ;
- la décision 2002/657/CE qui porte modalité d'application de la directive 96/23/CE en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats.

Il convient d'ores et déjà de préciser qu'une évolution majeure du paquet législatif a été publiée le 7 avril 2017 (Reg 2017/625/UE) (European Parliament & Council 2017) ; mise en application à partir de 2018, elle décrit de nouvelles dispositions relatives aux contrôles officiels.

Les directives européennes sont transposées en droit national pour devenir effectives dans chaque État membre. En France, les articles R 234-1 à R 234-14 du Code Rural et de la Pêche Maritime (CRPM) reprennent pour partie ces directives relatives aux promoteurs de croissance.

Les plans de contrôle mis en œuvre en 2015 et 2016

La directive 96/23/CE, complétée par la décision 97/747/CE, cadre la stratégie, le niveau et la fréquence d'échantillonnage à mettre en œuvre chaque année en production primaire pour la recherche des

Encadré. Dispositif de surveillance des promoteurs de croissance en France

Objectifs

- Vérifier le respect de l'interdiction réglementaire relative à l'utilisation des promoteurs de croissance,
- Vérifier l'absence de résidus de promoteurs de croissance dans les matrices d'animaux destinés à la consommation humaine,
- Mise en évidence de pratiques frauduleuses.

Cadre de la programmation

- Directive 88/146/CEE du 7 mars 1988 interdisant l'utilisation de certaines substances à effet hormonal dans les spéculations animales,
- Directive 96/22 CE modifiée par les Directives 2003/74/CE et 2008/97/CE concernant l'interdiction d'utilisation de certaines substances à effet hormonal ou thyrostatique et des substances β -agonistes dans les spéculations animales,
- Directive 96/23/EC du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits,
- Décision 2002/657/EC du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats,
- Code de la Santé Publique et Code Rural et de la Pêche Maritime

Protocole

- **Nature des composés recherchés :** substances à effet hormonal (œstrogènes, androgènes, progestagènes), stilbènes, lactones d'acides résorcylique, antithyroïdiens de synthèse ainsi que les substances β -agonistes et les corticostéroïdes.
- **Productions concernées :** productions nationales bovine, porcine, ovine, caprine, équine, volaille, aquaculture, lagomorpe, gibier.
- **Stade de la chaîne alimentaire :** élevage, abattoir
- **Définition « Non conforme » :** Un échantillon est déclaré non conforme, si la concentration mesurée de l'analyte dépasse la limite de décision de la méthode de confirmation (Art 6, Dec 2002/657/EC).
- **Nombre d'échantillons et modalités d'échantillonnage**
Le nombre de prélèvements à conduire par filière et par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) a été calculé pour répondre aux dispositions de la directive 96/23/EC. Le nombre de prélèvements à réaliser est fonction :
 - du nombre d'animaux abattus pour les animaux de boucherie et le gros gibier ;
 - du tonnage abattu pour la volaille, le petit gibier et les lagomorphes ;
 - du volume de production pour les poissons d'élevage.
- **Stratégie d'échantillonnage :** ciblée (conformation des animaux par exemple)
- **Méthodes analytiques :** spectrométrie de masse de type multidimensionnelle (MS/MS) pour les analyses de dépistage et de confirmation. Techniques spécifiques telles que haute résolution (HRMS), et de rapport isotopique (IRMS) également mises en œuvre dans le cadre d'analyses de confirmation.
- **Nature des prélèvements :** matrices biologiques telles que les urines, les phanères, les tissus, les rétines, les fèces et le sang.

promoteurs de croissance. Selon la filière considérée, l'annexe IV de cette directive définit le nombre minimal d'animaux devant être échantillonnés par groupe et sous-groupe de substances (A et B), en élevage et abattoir. L'échantillonnage est réalisé dans les filières suivantes :

- bovine, porcine, volaille au niveau des élevages et abattoirs,
- ovine/caprine, équine, lapin, gibier d'élevage au niveau des abattoirs,
- poissons d'élevage, au niveau des élevages ou à la première transformation.

Les prélèvements sont ciblés et inopinés. Les critères de ciblage peuvent être liés au type de production comme par exemple en élevage de type engraissement, où la conformation de l'animal sera privilégiée comme en abattoir. La présence de traces d'injection peut être également un critère de ciblage. Toute autre information dont disposent les DD(CS)PP et la BNEVP peut être pertinente pour la mise en évidence d'utilisation de substances interdites.

Les groupes de promoteurs de croissance recherchés annuellement dans le cadre de ces plans de contrôle sont définis conformément à la directive 96/23/CE : les stilbènes et dérivés de stilbènes (groupe A1), les antithyroïdiens de synthèse (groupe A2), les stéroïdes (groupe A3), les lactones d'acide résorcylique (groupe A4) et les β -agonistes (groupe A5). Soulignons que la recherche des corticostéroïdes (Groupe B2f) est traditionnellement associée à celle des promoteurs de croissance, car historiquement, en Europe, ils ont été retrouvés dans le cadre d'investigations liées à des mésusages de β -agonistes et/ou aux stéroïdes.

Hors obligations réglementaires, la France a choisi de surveiller également la présence d'hormones de croissance chez les bovins.

Le choix des matrices prélevées a été défini selon leur pertinence en termes soit de moyen d'administration possible (alimentation) soit de matrice concentrant le mieux les résidus révélant une administration frauduleuse. La rétine est par exemple une matrice biologique intéressante, car elle fixe durablement les résidus d'agonistes β 2-adrénérgiques et permet, longtemps après l'administration de la substance, la démonstration de la fraude. Elle est privilégiée en abattoir. Le poil possède lui aussi cette propension à fixer les résidus de stéroïdes ou de β -agonistes allongeant ainsi la fenêtre de la détection. Cette matrice est retenue à la fois en élevage et en abattoir. Il existe ainsi plusieurs couples matrices/molécules qui augmentent l'efficacité du contrôle (e.g. β -agonistes/poumon ou rétine, stéroïdes/fèces, progestagènes/tissu adipeux, thyrostatiques/thyroïde...). Depuis 2015, la matrice fèces a été ajoutée à la liste des matrices prélevées, pour la recherche des stilbènes, stéroïdes et acides résorcyliques dans le cadre d'un plan exploratoire. Il s'agit ici d'évaluer les performances des méthodes de dépistage existantes sur cette nouvelle matrice et d'étudier sa pertinence scientifique ainsi que la praticité de mise en œuvre sur le terrain.

Échantillonnage et répartition des prélèvements en 2015 et 2016

Le nombre de prélèvements à réaliser par filière et par lieu de prélèvement (élevage ou abattoir) a été calculé (Tableau 2) :

1- pour répondre aux dispositions de la directive 96/23/CE, soit au *prorata* :

- du nombre d'animaux abattus pour les animaux de boucherie et le gros gibier ;
- du tonnage abattu pour la volaille, le petit gibier et les lagomorphes ;
- du tonnage de production pour les poissons d'élevage.

2- pour répondre à une priorisation fonction du nombre de non conformités relevées les années précédentes.

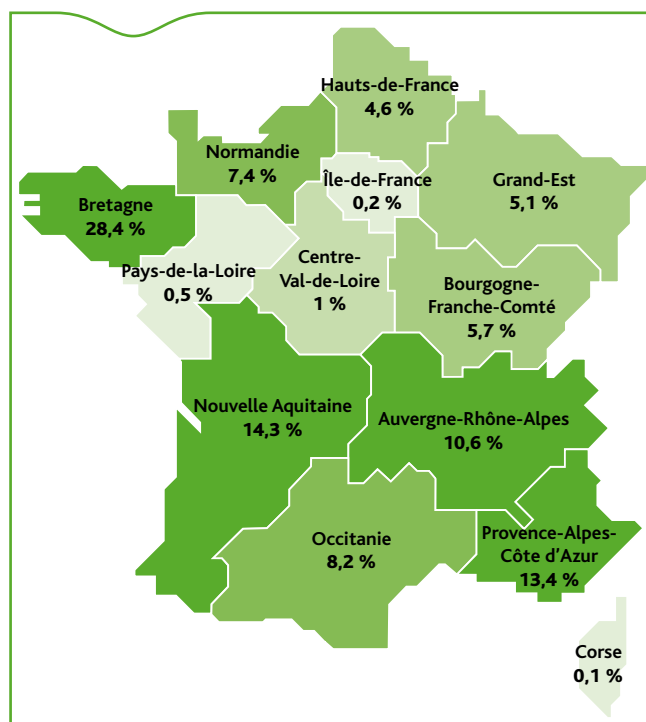


Figure 1. répartition régionale des prélèvements réalisés pour le groupe de substances A1 à A5 et B2f pour les années 2015 et 2016.

Le volume d'abattage et le tonnage produit en 2014 et 2015 pour les différentes espèces concernées sont sensiblement équivalents. Seuls les chiffres de l'année 2015, utilisés pour la programmation et la répartition des prélèvements 2016, sont reportés dans le tableau 2 à titre d'exemple. La répartition régionale de ces prélèvements a été faite au prorata des volumes d'élevages pour les prélèvements en élevage et au prorata des volumes d'abattage pour les prélèvements en abattoirs tel qu'illustré en figure 1. La répartition des prélèvements reste équivalente par région en 2015 et 2016.

Promoteurs de croissance recherchés et méthodes d'analyse

La directive 96/23/EC impose aux États membres le développement de méthodes analytiques fiables pour le contrôle de l'utilisation frauduleuse de facteurs de croissance en élevage, sous la coordination de deux laboratoires de référence de l'Union européenne (EU-RL) désignés par la Commission européenne (le RIKILT au Pays-Bas et le BVL en Allemagne).

Les méthodes officielles permettent la détection et l'identification d'environ 70 promoteurs de croissance. L'analyse de première intention réalisée sur un échantillon, dite de dépistage, doit être rapide, facile à mettre en œuvre, peu onéreuse, sensible et robuste. Ces méthodes présentent une grande capacité de traitement pour passer au crible de nombreux échantillons en vue de distinguer rapidement les échantillons « conformes » des « suspects ». Un échantillon est déclaré suspect lorsqu'à l'issue du dépistage, l'identité du composé est affirmée et, dans le cas où la molécule est soumise à une limite maximale résiduelle, lorsque sa concentration excède ce seuil. Cette première étape doit permettre la sélection d'échantillons suspects qui devront ensuite être diagnostiqués conformes ou non par une méthode de confirmation. L'échantillon est alors ré-extrait pour vérifier qu'il ne s'agit pas d'un faux diagnostic (contamination, inversion d'échantillon...). La non-conformité est prononcée lorsque la concentration du composé identifié est supérieure au seuil de décision ou CC?. Les performances des méthodes ainsi développées doivent satisfaire, pour l'étape de dépistage, à un taux de résultats faux conformes (faux négatifs)

Tableau 1. Les plans de contrôle des promoteurs de croissance dans les matrices animales pour les années 2015 et 2016.

	Groupe de substances	Alimentation animale	Sang	Urine	Poil	Poumon	Œil	Thyroïde	Muscle ou foie	Fèces
Bovins	A1-Stilbènes	X		X	X				X	X
	A2-Antithyroïdiens	X		X			X			
	A3-Stéroïdes	X		X	X				X	X
	A3-Esters de stéroïdes				X					
	A4-Acides résorcyliques	X		X	X				X	X
	A5-b-agonistes	X		X	X	X	X			
	B2f-Glucocorticoïdes								X	
	Somatotropine bovine recombinée		X							
Porcins	A1-Stilbènes	X		X					X	
	A2-Antithyroïdiens	X		X						
	A3-Stéroïdes	X		X					X	
	A3-Esters de stéroïdes				X					
	A4-Acides résorcyliques	X		X					X	
	A5-b-agonistes	X				X	X			
	B2f-Glucocorticoïdes								X	
Ovins Caprins Équins	A1-Stilbènes			X						
	A2-Antithyroïdiens			X						
	A3-Stéroïdes			X						
	A4-Acides résorcyliques			X						
	A5-b-agonistes					X				
	B2f-Glucocorticoïdes								X	
Volaille	A1-Stilbènes	X							X	
	A3-Stéroïdes	X							X	
	A4-Acides résorcyliques	X							X	
	A5-b-agonistes	X				X				
Lapins Gibier	A1-Stilbènes								X	
	A3-Stéroïdes								X	
	A4-Acides résorcyliques								X	
	A5-b-agonistes					X				
Poissons	A1-Stilbènes								X	
	A3-Stéroïdes								X	
	A4-Acides résorcyliques								X	

inférieur à 5 % et, pour l'étape de confirmation, à un taux de résultats faux non-conformes (faux positifs) inférieur à 1 %. Les exigences relatives aux performances des méthodes ainsi qu'à l'interprétation des résultats sont décrites dans la décision 2002/657/CE.

Si les méthodes de dépistage peuvent reposer sur différentes techniques analytiques (immuno-essais, spectrométrie de masse, ...), les méthodes de confirmation impliquent, quant à elles, l'analyse ciblée du composé administré et/ou de ses métabolites directs par chromatographie couplée à une détection par spectrométrie de masse pour une identification non ambiguë de l'analyte d'intérêt et sa quantification.

Méthodes de dépistage

Les analyses officielles de dépistage sont conduites par le réseau des 11 laboratoires de première intention agréés par le ministère de l'agriculture et de l'alimentation. Ces structures disposent de méthodes multi-résidus officielles, développées et validées par le LNR, selon la décision 2002/657/CE. Ces méthodes permettent la recherche de promoteurs de croissance sur des matrices biologiques complexes comme les urines, les phanères (e.g. poil) ou d'autres matrices retenues en fonction de leur pertinence.

La nature des extraits biologiques, souvent complexe, nécessite généralement plusieurs étapes d'extraction et de purification avant

caractérisation de leur contenu. Les méthodes de mesure doivent combiner sélectivité et sensibilité, car les résidus de ces substances sont présents le plus souvent à l'état d'ultra-traces (du ng.kg⁻¹ au pg.kg⁻¹). Parmi les méthodes les plus utilisées aujourd'hui, on retrouve la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse. Il peut s'agir de chromatographie en phase gazeuse pour les petites molécules thermostables et volatiles (stéroïdes, stilbènes, lactones d'acide résorcylique) ou de la chromatographie en phase liquide pour les autres (β -agonistes, thyrostatiques, somatotropine, corticostéroïdes). Pour une spécificité accrue de la détection, la spectrométrie de masse est systématiquement de type multi-dimensionnelle (MS/MS), elle peut être parfois de type haute résolution (HRMS).

Les méthodes de dépistage sont amenées à évoluer pour répondre aux pratiques frauduleuses qui mettent en œuvre l'utilisation de cocktails de promoteurs de croissance faiblement dosés. Par exemple, la méthode dédiée à la recherche des β -agonistes dans la matrice aliment met désormais en œuvre la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem, plus sensible que la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Le nombre de substances recherchées est ainsi doublé selon cette technique. De la même manière, le nombre de stéroïdes recherchés a été augmenté en s'appuyant sur la liste des substances interdites publiée par l'Agence Mondiale Anti-dopage (Thevis et al. 2016).

Méthodes de confirmation

Une analyse de confirmation est mise en œuvre lorsque, à l'issue de l'analyse de dépistage, le laboratoire du réseau a suspecté la présence d'un des composés recherchés. La stratégie de confirmation et la technique d'analyse mise en œuvre sont définies spécifiquement en fonction de la nature de l'analyte suspecté et de sa concentration. On distinguera pour cela deux sous-groupes de substances parmi les promoteurs de croissance: les substances dites xénobiotiques pour lesquelles la seule détection signe sans ambiguïté une utilisation frauduleuse chez l'animal de substances chimiques et les substances de nature endogène (e.g. estradiol, testostérone...) pour lesquelles la détection n'implique pas forcément la non-conformité de l'échantillon. En effet, les stéroïdes androgéniques (testostérone, nandrolone, boldénone) et estrogéniques (estradiol) peuvent être détectés à des concentrations très variables en fonction de l'âge, du sexe et de l'état physiologique de l'animal. Dans le cas de la testostérone et de l'estradiol, la mesure de la composition isotopique en carbone $^{13}C/^{12}C$ par spectrométrie de masse de rapport isotopique (GC-C-IRMS) permet de distinguer le caractère endogène ou exogène des résidus notamment dans l'urine de l'animal. Le poil peut être aussi utilisé pour ce type de composés, car les résidus des formes esters de stéroïdes administrés peuvent s'y fixer, ce qui démontre sans contestation l'usage de ladite substance, l'organisme de l'animal ne produisant pas ce type de dérivé (e.g. boldénone undécyléate, nandrolone cypionate...). La présence de certaines substances peut également être attribuée à l'alimentation de l'animal. Il s'agit notamment du zéranol (groupe A4) ou encore du thiouracile (groupe A2) qui peuvent être respectivement la conséquence d'un aliment contaminé par une mycotoxine (la zéaralénone) ou encore une alimentation enrichie en brassicacées (Pinel et al. 2006a). Pour toutes ces situations délicates, le LNR se charge des confirmations et des interprétations.

Résultats/Bilan 2015 et 2016

Les analyses réalisées en 2015 dans le cadre des différents plans de surveillance visant la présence des substances des groupes A1 à A5 et B2f permettent de respecter entre 96,9 % et 134 % des exigences réglementaires. Le plan de surveillance de la filière bovine cumule le nombre le plus important de prélèvements pour les groupes de substances A et B (18106) et respecte 97,3 % des exigences décrites par la 96/23/CE.

À l'issue de l'étape de dépistage, réalisée sur l'ensemble des prélèvements, les analyses mises en œuvre dans le cadre de confirmations ont majoritairement concerné les composés considérés comme potentiellement endogènes tels la boldénone,

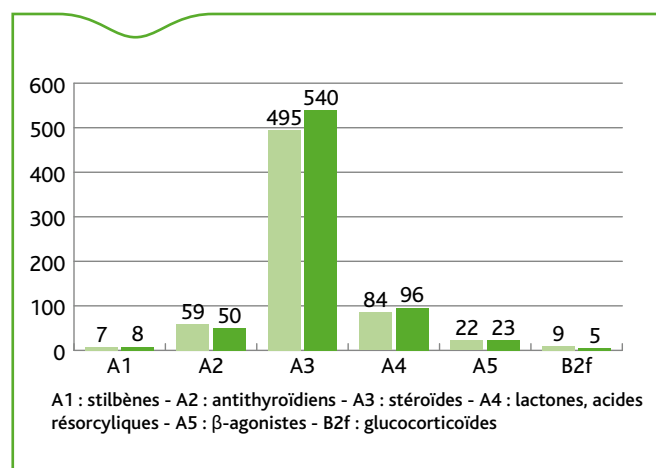


Figure 2. répartition du nombre d'analyses de confirmation réalisées selon le groupe de substances pour les années 2015 et 2016.

la nandrolone, l'estradiol, la testostérone, le zéranol, le taléranol et qualifiés d'hormones naturelles, mais aussi des composés strictement xénobiotiques tels les β -agonistes, les esters de stéroïdes (A1 et A3). La ventilation des analyses de confirmation en fonction du groupe de substances d'intérêt pour les années 2015 et 2016, est représentée Figure 2.

En 2016, le taux de non-conformité observé est égal à 0,71 % contre 0,4 % en 2015 pour les substances du groupe B2f avec un dépassement de la Limite Maximale Résiduelle pour la Dexaméthasone dans la matrice foie pour la filière bovine uniquement. Des inspections ont été menées dans les élevages dont sont issus les résultats non conformes.

Le taux de non-conformité atteint 1,1 % en 2015 et 2016 pour la filière équine avec la mise en évidence de clenbutérol (groupe A5) dans la matrice rétine. Ces résultats montrent comme déjà décrit la pertinence de cette matrice pour la surveillance des substances du groupe A5.

En 2016, le thiouracile (Groupe A2) a été identifié dans des urines de bovins à des concentrations supérieures à $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ impliquant un taux de non-conformité égal à 0,51 %. Ces concentrations ne sont toutefois pas incompatibles avec une alimentation enrichie en brassicacées (Pinel et al. 2006a; Pinel et al. 2006b).

Dans un contexte similaire de suspicion de présence « naturelle » de certains composés recherchés, si la présence de nandrolone endogène dans les urines de bovins ou de porcins est décrite depuis plusieurs années (Dervilly-Pinel et al. 2011), il convient désormais d'investiguer ce phénomène chez d'autres espèces animales, en l'occurrence chez les petits ruminants. Le taux de non-conformité atteint 8,25 % pour cette filière en 2016. Une étude visant à établir des données de prévalence selon le sexe de l'animal est en cours, elle permettra d'affiner l'interprétation des résultats pour ces espèces (ovins, caprins).

Outre les familles listées dans l'annexe I de la Directive 96/23/EC, d'autres substances non réglementées vont faire l'objet de plans exploratoires. C'est le cas des SARMs (Selective Androgen Receptor Modulators). Ces substances sont aujourd'hui recherchées dans le cadre de deux plans exploratoires dans les matrices urine et fèces. Aucune non-conformité n'a été mise en évidence à ce jour.

Conclusion

Le contrôle de l'usage des promoteurs de croissance est aujourd'hui assuré par un maillage de compétences associant:

- les DDecPP qui assurent le ciblage des prélèvements;
- le réseau des laboratoires agréés qui met en œuvre des méthodes de dépistage permettant la recherche d'environ 70 composés différents appartenant aux différents groupes connus de promoteurs de croissance;
- le LNR qui développe et met en œuvre des méthodes de confirmation performantes.

Les principaux freins à un contrôle encore plus efficace de l'utilisation des promoteurs de croissance sont aujourd'hui de trois types:

- la difficulté de prélèvement de certaines matrices sur les animaux cibles,
- la détection des substances naturelles douées de propriétés anabolisantes,
- la mise en évidence de molécules inconnues.

Plusieurs pistes sont d'ores et déjà investiguées pour répondre à ces trois points:

- Un plan expérimental de prélèvement de fèces a été mis en place afin d'évaluer la pertinence scientifique de cette matrice pour la recherche des substances stéroïdiennes et envisager la collecte des fèces plutôt que celle des urines, difficiles à prélever en condition terrain chez les animaux cibles.

Tableau 2. Nombre de prélèvements à réaliser par filière et lieu de prélèvement pour les années 2015 et 2016

	Population cible	Taille de l'échantillon national minimal annuel imposé par la réglementation pour la recherche des promoteurs de croissance et autres substances interdites (groupe A)	Taille minimal de l'échantillon national par sous-groupe	Programmation DGAL 2015 et 2016					
	2015			Élevage	Abattoir	Total			
Bovins	4681 200 têtes	0,25 % de la production dont la moitié en élevage	11 703 échantillons dont 6 000 en élevage	A1 Stilbènes	5 %	585			
				A3 Stéroïdes (+esters)	5 %	585	3 500	3 200	6 700
				A4 Acides résorcyliques	5 %	585			
				A2 Antithyroïdiens	5 %	585	300	300	600
				A5 β-agonistes	5 %	585	1 500	1 800	3 300
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	5 %	585	500	500	1 000
		Abs	Abs	B2f Glucocorticoïdes	Abs	Abs		600	600
	Abs	Abs			Somatotropine	Abs	Abs	200	200
TOTAL PROMOTEURS BOVINS									11400
Porcins	23 677 900 têtes	0,02 % de la production avec un minimum 0,001 % en élevage	4 736 échantillons dont 239 en élevage	A1 Stilbènes	5 %	237			
				A3 Stéroïdes (+esters)	5 %	237	130	189	319
				A4 Acides résorcyliques	5 %	237			
				A2 Antithyroïdiens	5 %	237	40	199	239
				A5 β-agonistes	5 %	237	40	596	636
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	5 %	237	40	3 510	3 550
		Abs	Abs	B2f Glucocorticoïdes	Abs	abs		199	199
TOTAL PROMOTEURS PORCINS									1 393
Petits ruminants	4 202 900 têtes	0,01 % de la production	420 échantillons	A1 Stilbènes	5 %	21			
				A3 Stéroïdes	5 %	21		100	100
				A4 Acides résorcyliques	5 %	21			
				A2 Antithyroïdiens	5 %	21		30	30
				A5 β-agonistes	5 %	21		100	100
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	5 %	21		210	210
		Abs	Abs	B2f Glucocorticoïdes	Abs	Abs		100	100
TOTAL PROMOTEURS PETITS RUMINANTS									330
Équins	19 000 têtes 15 974 têtes	Pas de minimum imposé		A1 Stilbènes	Abs	Abs			
				A3 Stéroïdes	Abs	Abs		3	3
				A4 Acides résorcyliques	Abs	Abs			
				A2 antithyroïdiens	Abs	Abs		3	3
				A5 β-agonistes	Abs	Abs		83	83
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	Abs	Abs		5	5
				B2f Glucocorticoïdes	Abs	Abs		4	4
TOTAL PROMOTEURS ÉQUINS									93
Volailles	1 927 000 tonnes	0,25 % du tonnage avec un minimum 0,05 % élevage	4 817 échantillons	A1 Stilbènes	5 %	240			
				A3 Stéroïdes	5 %	240	55	245	300
				A4 Acides résorcyliques	5 %	240			
				A5 β-agonistes	5 %	240	205	635	840
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	5 %	240			3 000
TOTAL PROMOTEURS VOLAILLES									1 140
Lapins	36 700 tonnes	30 prélèvements et 0,1 % du tonnage	67 échantillons	A1 Stilbènes					
				A3 Stéroïdes				10	10
				A4 Acides résorcyliques	30 %	20			
				A5 β-agonistes				10	10
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	70 %	47		50	50
TOTAL PROMOTEURS LAPINS									20
Gibier d'élevage	3 000 têtes gros gibier 9 000 tonnes	20 prélèvements	20 prélèvements	A1 Stilbènes	Abs				
				A3 Stéroïdes	Abs	Abs		5	5
				A4 Acides résorcyliques	Abs				
				A5 β-agonistes	Abs	Abs		5	5
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	Abs	Abs		20	20
TOTAL PROMOTEURS GIBIER									10
Poissons élevage	43 500 tonnes	0,333 %	144 échantillons	A1 Stilbènes	Abs	Abs			
				A3 Stéroïdes	Abs	Abs		25	25
				A4 Acides résorcyliques	Abs	Abs			
				A6 sbstces incluses dans 37/2010 - tableau 2	Abs	Abs			181
TOTAL PROMOTEURS POISSONS									25
TOTAL PROMOTEURS TOUTES FILIÈRES									14 411

- L'utilisation de la spectrométrie de masse de rapport isotopique qui permet de mesurer avec une grande précision le rapport carbone 12/carbone 13 dans une molécule, proportion qui diffère selon que la molécule soit endogène ou de synthèse (Buisson et al. 2005; Janssens et al. 2015).
- Des stratégies alternatives sont également investiguées et reposent notamment sur la combinaison de couples matrices/résidus pertinents, par exemple sang/esters de stéroïdes, poils/esters de stéroïdes (Kaabia et al. 2013), rétine/ β -agonistes, ou encore fèces/SARMs (Rojas et al. 2016).
- En ce qui concerne la détection de composés inconnus, ou plus largement de manipulations physiologiques frauduleuses, des approches d'exploration globale du fonctionnement de l'organisme, investiguées au cours de la dernière décennie, ont d'ores et déjà fait leurs preuves. Ces stratégies ne cherchent pas à identifier directement la présence de molécules suspectées ou de leurs métabolites directs, mais à révéler une signature métabolique ou physiologique spécifique pouvant être associée à une pratique anabolisante. Un tout premier exemple de suivi de biomarqueurs identifiés via une approche métabolomique (Dervilly-Pinel et al. 2012; Dervilly-Pinel et al. 2015) et dédié au dépistage de l'utilisation de composés β -agonistes chez le veau est ainsi mis en œuvre depuis 2013 en France pour le contrôle officiel. La méthode associée a été proposée à l'accréditation (ISO17025) fin 2016.

Références

- Buisson C, Hebestreit M, Weigert AP, Heinrich K et al. (2005) Application of stable carbon isotope analysis to the detection of 17 β -estradiol administration to cattle. *J Chromatogr A*, **1093**: 69-80.
- Dervilly-Pinel G, Chereau S, Cesbron N, Monteau F et al. (2015) LC-HRMS based metabolomics screening model to detect various β -agonists treatments in bovines. *Metabolomics*, **11**: 403-411.
- Dervilly-Pinel G, Courant F, Chereau S, Royer A et al. (2012) Metabolomics in food analysis: application to the control of forbidden substances. *Drug Test Anal*, **4**: 10.
- Dervilly-Pinel G, Rambaud L, Sitthisack P, Monteau F et al. (2011) 5 α -Estrane-3 β ,17 β -diol and 5 β -estrane-3 α ,17 β -diol: Definitive screening biomarkers to sign nandrolone abuse in cattle? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **126**: 65-71.
- European Parliament, Council E (2017) Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council of 15 March 2017 on official controls and other official activities performed to ensure the application of food and feed law, rules on animal health and welfare, plant health and plant protection products, amending Regulations (EC) No 999/2001, (EC) No 396/2005, (EC) No 1069/2009, (EC) No 1107/2009, (EU) No 1151/2012, (EU) No 652/2014, (EU) 2016/429 and (EU) 2016/2031 of the European Parliament and of the Council, Council Regulations (EC) No 1/2005 and (EC) No 1099/2009 and Council Directives 98/58/EC, 1999/74/EC, 2007/43/EC, 2008/119/EC and 2008/120/EC, and repealing Regulations (EC) No 854/2004 and (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council, Council Directives 89/608/EEC, 89/662/EEC, 90/425/EEC, 91/496/EEC, 96/23/EC, 96/93/EC and 97/78/EC and Council Decision 92/438/EEC (Official Controls Regulation)Text with EEA relevance. In: REG 2017/625/EU.
- Janssens G, Mangelinckx S, Courtheyn D, De Kimpe N et al. (2015) Simultaneous Detection of Androgen and Estrogen Abuse in Breeding Animals by Gas Chromatography-Mass Spectrometry/Combustion/Isotope Ratio Mass Spectrometry (GC-MS/C/IRMS) Evaluated against Alternative Methods. *J Agric Food Chem*, **63**: 7574-7581.
- Pinel G, Mathieu S, Cesbron N, Maume D et al. (2006a) Evidence that urinary excretion of thiouracil in adult bovine submitted to a cruciferous diet can give erroneous indications of the possible illegal use of thyrostats in meat production. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, **23**: 974-980.
- Pinel G, Maume D, Deceuninck Y, Andre F et al. (2006b) Unambiguous identification of thiouracil residue in urine collected in non-treated bovine by tandem and high-resolution mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, **20**: 3183-3187.
- Rojas D, Dervilly-Pinel G, Cesbron N, Penot Men et al. (2016) Selective Androgen Receptor Modulators: comparative excretion study of Bicalutamide in bovine urine and feces. *Drug Testing and Analysis*.
- Thevis M, Kuuranne T, Walpurgis K, Geyer H et al. (2016) Annual banned-substance review: analytical approaches in human sports drug testing [Annual banned-substance review]. *Drug Test Anal*, **8**.