



## Toxicologie analytique

### **TD 2:**

# **Le dosage des produits dopants**

«L'utilisation de substances ou de tous moyens destinés à augmenter artificiellement le rendement, en vue ou à l'occasion de la compétition, et qui peut porter préjudice à l'éthique sportive et à l'intégrité physique et psychique de l'athlète »

# Liste des substances et procédés dopants

## I. Classe des substances interdites

**A. Stimulants** (amineptine, amphétamine, la caféine, cocaïne, éphédrine, salbutamol), leurs effets accroissent l'attention, réduisent la fatigue.

**B. Narcotiques** (buprénorphine, diamorphine, méthadone, morphine, péthidine) .Ils servent à masquer momentanément une douleur (musculaire) dont l'intensité peut inhiber les performances du sportif.

**C. Agents anabolisants** permettent une augmentation de poids par action positive sur la masse musculaire et exercent un effet psycho-stimulant. Ils ont une place prépondérante parmi les substances dopantes. Ils sont les plus utilisés (62 % des cas positifs, suivis par les stimulants (24 %) et les diurétiques (4 %) .(testostérone, drostènedione, clostébol, mestérolone, nandrolone, stanozolol, clenburéto)

**D. Diurétiques** Ces substances sont utilisées dans les sports à catégorie de poids tels que le judo, la boxe. Les sportifs les utilisent pour obtenir une réduction rapide du poids, une dilution des urines avant les contrôles antidopage. (acétazolamide, bumétanide, furosémide, mannitol, triamterène)

**E. Hormones peptidiques** des substances interdites appartenant à cette classe comprennent les substances suivantes et leurs analogues:

- gonadotrophine chorionique;
- gonadotrophines hypophysaires et synthétiques ;
- corticotrophines ( tétracosactide) ;
- hormones de croissance ;
- facteurs de croissance et tous les facteurs de libération respectifs;
- érythropoïétine (EPO) ;
- insuline: autorisée uniquement pour traiter les athlètes souffrant de diabète insulino-dépendant déclaré.

.

## **Méthodes interdites**

A. Dopage sanguin (transfusion sanguine)

B. Manipulation pharmacologique, chimique et physique.

C. Thérapie cellulaire (l'administration de transporteurs artificiels d'oxygène )

L'ingestion de ces **drogues** auraient pour effet d'améliorer les capacités des usagers (développer ses forces, lutter contre la fatigue, voir plus loin, vaincre la peur...) nécessaires afin de survivre dans un environnement hostile.

Les techniques les plus utilisées pour la détection de ces substances sont:

- La chromatographie en phase gazeuse,
- La chromatographie liquide haute performance,
- Le dosage immunologique,
- La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- L'électrophorèse



## Echantillons biologiques utiles pour la détection des produits interdits

- Le développement rapide des nouvelles technologies instrumentales utilisées en analyse toxicologique (GC-MS/MS, LC-MS) a permis l'émergence de procédés applicables à toute une nouvelle série d'échantillons biologiques qui, à côté du sang, sont, par exemple, *les cheveux, la salive et la sueur.*

## A. Urine

1. L'urine est certainement l'échantillon biologique le plus commun utilisé pour la détection des drogues et médicaments.
2. L'échantillonnage est facile à réaliser et n'est pas considéré comme invasif. Les quantités importantes aisément récoltées favorisent la recherche d'un éventail large de substances les plus diverses.
3. La matrice urinaire est relativement simple et les procédures à mettre en œuvre sont plus rapides et plus facilement automatisables en comparaison de celles utilisées pour les autres matrices biologiques.

## B. Sang

1. La prise de sang est considérée comme un procédé invasif. Elle est donc pratiquée dans les cas cliniques seulement.
2. Le sang complet est une matrice complexe, de nature hétérogène et qui change de composition en s'hémolysant.
3. La fenêtre de temps de détection pour la majorité des substances dopantes et leurs métabolites qui sont recherchés habituellement est limitée de quelques minutes à plusieurs heures.

## C. Cheveux

1. La détection des substances médicamenteuses dans les cheveux s'est beaucoup développées ces dernières années, ouvrant ainsi une fenêtre de détection temporelle plus large que ce qui est possible exclusivement avec l'urine
2. En plus d'un potentiel diagnostique prometteur des analyses de cheveux, l'échantillonnage des cheveux est facile.
3. Les cheveux doivent être conservés et transportés sans réfrigération, les méthodes (détection, identification et dosage) appliquées aux cheveux sont similaires à celles utilisées dans les laboratoires de toxicologie analytique .

## **Méthodes d'analyse**

Il s'agit de méthodes de dépistage rapide et de méthodes de confirmation qui sont surtout réalisées sur les prélèvements d'urine.

### ***- Méthodes de dépistage rapide***

Il s'agit seulement à ce stade d'effectuer un «tri » entre les échantillons négatifs et les échantillons qui présentent des anomalies par rapport aux profils analytiques habituels.

Ces techniques de «screening » doivent répondre à certain nombre de critères: sensibilité de détection, rapidité d'obtention des résultats, nécessité d'un volume réduit d'échantillons biologiques .

## *-Méthodes de dépistage spécifiques*

Les règles générales des protocoles d'identification sont classiques:

- Refaire des cycles analytiques complets à partir de l'échantillon biologique lui même pour éliminer toute possibilité d'interférence,
- Tester par des témoins la non pollution des divers réactifs utilisés, identifier la substance présente par comparaison avec l'échantillon urinaire de référence,
- Vérifier la similitude des spectres de masse obtenus et des caractéristiques de rétention chromatographique,

## Dépistage de l'EPO

L'EPO synthétique s'injecte sous la peau et pénètre au sein des os plats dans lesquels il provoque une accélération de la production des cellules CFU-E (Colony Forming Unit-Erythroblast), ces dernières donnent naissance à des *erythroblastes* qui sont à l'origine de la création de masse des globules rouges.

.

L'EPO est recherché par les sportifs pour:

1. Sa capacité à améliorer le transport du dioxygène dans le corps.
2. En effet, l'érythropoïétine permet une augmentation de la quantité de globules rouges dans le sang, ce qui entraîne une meilleure circulation du dioxygène dans les artères. Cela rend les organes sollicités lors d'efforts physiques deux fois plus performants et ainsi permet aux sportifs d'accroître leurs compétences de 10 à 20%.
3. L'effet n'est pas rendu après une seule prise mais suite à un long traitement qui dure plusieurs mois.



## **test urinaire :**

Le test urinaire consiste à prélever un échantillon d'urine de l'individu suspect afin de détecter la présence d'EPO synthétique dans son corps, on peut le différencier de l'EPO naturelle.

Deux techniques sont utilisées pour les tests urinaires:

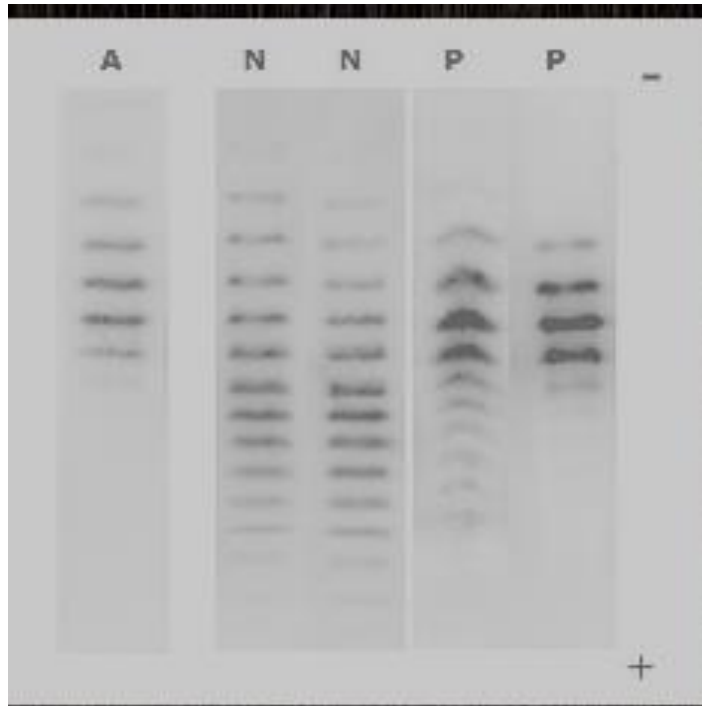
**L'isoélectrophorèse** est une sorte de chromatographie qui consiste à déposer l'échantillon sur une plaque électrique recouverte d'un gel.

- La plaque est composée de deux pôles: un positif qui attire les solutions basiques, et un autre négatif qui attire les solutions acides.

- En y ajoutant un courant électrique l'EPO naturelle se déplace avec le gel du côté basique (vers un pH de 3,92-4,42) alors que l'EPO synthétique se déplace de l'autre côté, vers un pH plus acide. En effet, l'EPO naturelle est moins acide que le synthétique.

**L'électrofocalisation** est une autre chromatographie sur plaque à laquelle on ajoute un courant tridimensionnel (champ électrique dans un plan et aussi sur axe). Les protéines sont séparées en fonction de leurs charges électroniques et l'EPO synthétisé peut être reconnu grâce à sa mise en évidence par un anticorps « anti-epo », qui détruit seulement l'EPO naturelle.

**NB:** Cependant ces techniques sont peu fiables car la concentration de l'EPO dans les urines est présente en très faible quantité.



*Test de dépistage de l'EPO dans l'urine d'un individu*

## **Test sanguin :**

- Le test sanguin, introduit depuis 1997 dans le cyclisme est la seule technique à ce jour assez complète pour permettre un contrôle le plus précis et le moins coûteux que possible.
- L'équipe médicale analyse le sang prélevé sur un sportif durant un contrôle pour déterminer s'il est positif ou non à la prise d'EPO. Durant l'analyse du sang, les médecins mesurent le taux de pourcentage en hémocrite (pourcentage du volume des globules rouges par rapport au volume sanguin), si celui-ci est supérieur à 50% on estime qu'il est positif à la prise d'EPO.

- En clair, les médecins analysent la viscosité du sang, le sang devient visqueux à cause d'une quantité anormale de globules rouges due à la prise d'EPO. Néanmoins, les cyclistes contournent ce dépistage en diluant leur sang en s'injectant certaines substances avant un contrôle. Ceci fausse le test mais certaines personnes non-traitées à l'EPO présentent un taux d'hématocrite légèrement supérieur à 50%.

- **Le test sanguin** s'avère donc une technique de dépistage faisant partie des plus efficaces mais elle présente tout de même des failles car parfois les tribunaux le considère comme une preuve irrecevable.