



# Aspects analytiques et logistiques des analyses anti- dopage

Dr Nicolas LEUENBERGER, Privat-docent

Lausanne, le 9 septembre 2020



# CONTEXTE ANTI-DOPAGE

## ORGANISATIONS ANTI-DOPAGE FEDERATIONS INTERNATIONALES



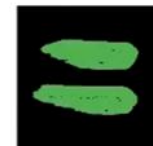
FIFA

UCI



## ORGANISATIONS ANTIDOPAGE NATIONALES (NADO)     antidoping.ch

## COMITES OLYMPIQUES ET PARALYMPIQUE (CIO & CPI)



AGENCE  
MONDIALE  
ANTIDOPAGE

franc jeu

TRIBUNAL ARBITRAL  
DU SPORT (TAS)  
à Lausanne



RESULTATS

LABORATOIRES  
~30 dans le monde

ECHANTILLONS D'URINE  
ET DE SANG

ATHLETES

AUTORITE DE COLLECTE  
D'ECHANTILLON

# Laboratoire Suisse des analyses antidopages (LAD)

---

- Première accreditation en 1991
- Le LAD fait partie du CHUV
- ~18'000 échantillons analysés par année
- ~25 personnes travaillent au LAD

# Personnel du LAD

---

- **Directrice du LAD : Dr Tiia Kuuranne**
  - **7 scientifiques certificateurs**
  - **8 techniciens de lab. (temps partiel)**
  - **1 responsable qualité**
  - **3 personnel administratifs**
  - **1 responsable IT**
  - **Etudiants (Lab/Masters/PhD students)**

# Conditions d'accréditation

- basée sur le respect de 2 STANDARDS INTERNATIONAUX:



**ISO/IEC 17025**

Norme d'accréditation ISO  
pour les laboratoires

[www.iso.org/fr](http://www.iso.org/fr)

**ISL**

Standard international  
pour les laboratoires



[www.wada-ama.org/fr](http://www.wada-ama.org/fr)

- Et sur le programme obligatoire de contrôle de compétences:

**EQAS**

Système d'évaluation  
externe de la qualité

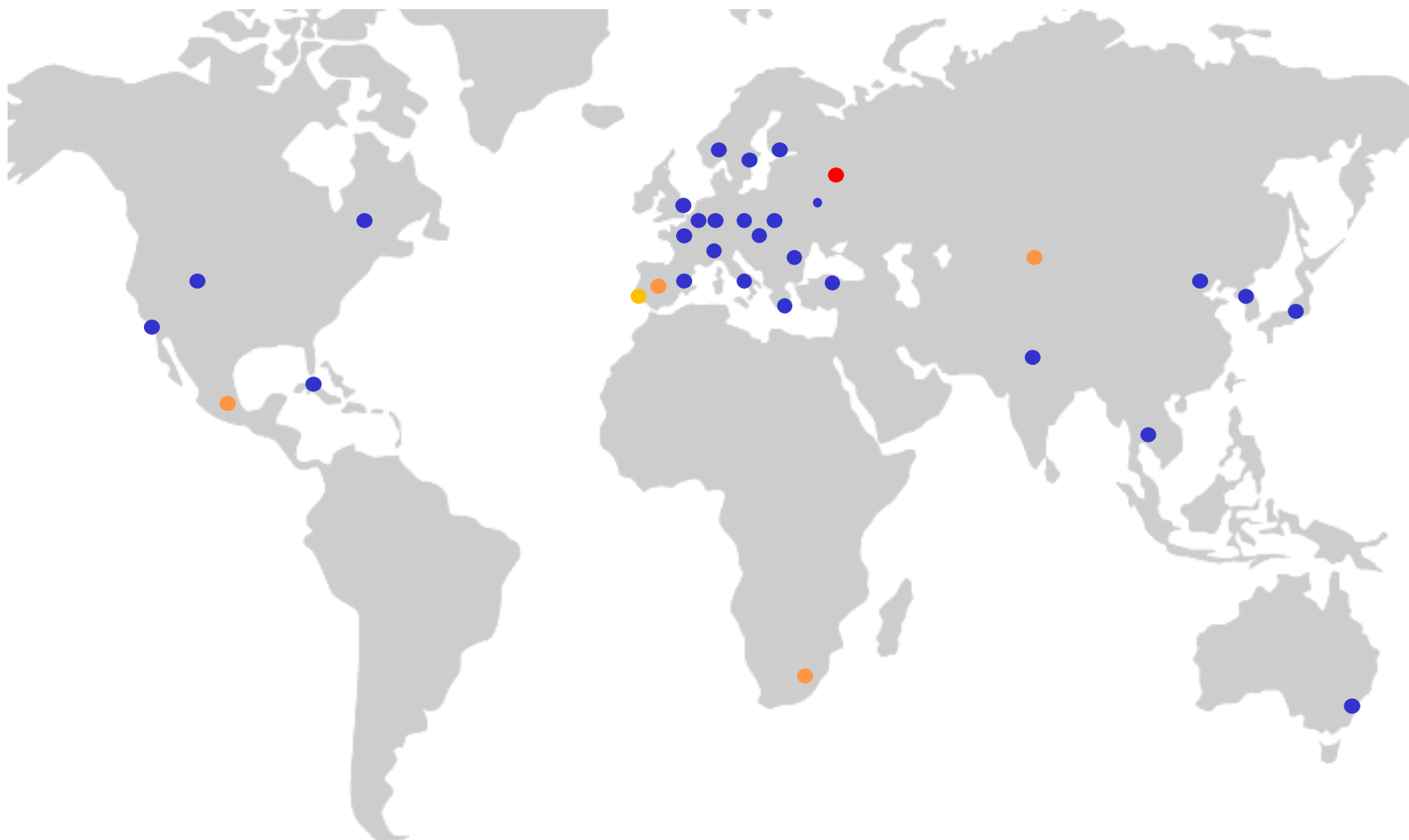


échelle de points (30 points)

au minimum: 20 échantillons dont  
2 en double aveugle et  
3 pour les substances à seuil

**!! risque de suspension ou révocation !!**

# Laboratoires anti-dopages



# Procédure de contrôle

1 ) Convocation au contrôle

2 ) Choix du gobelet

3 ) Remise de l'urine

4 ) Choix du set de contrôle

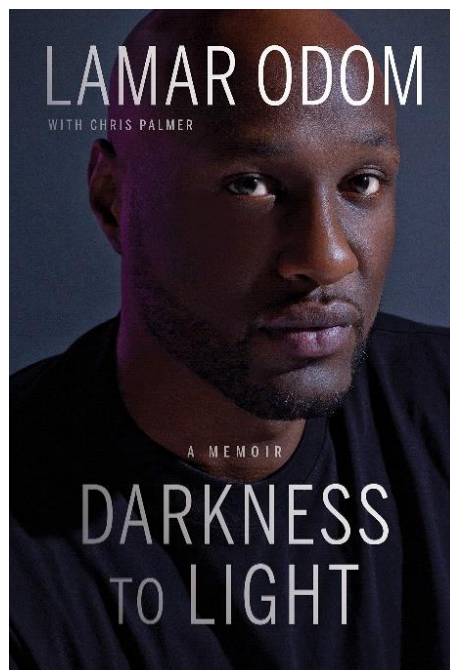
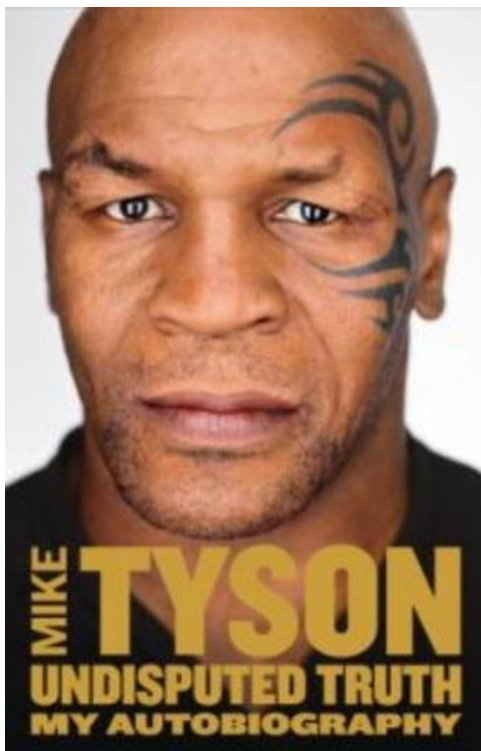
5 ) Transvasement de l'urine

6 ) Fermeture du flacon

8 ) Annonce des médicaments consommés



# Comment échapper aux contrôles ?



White



Latino



Black



# PARCOURS DE L'ECHANTILLON



**A+B SAMPLE:**  
RECEPTION  
ENREGISTREMENT

**B SAMPLE:**  
STORAGE (-20°C)

**A SAMPLE:**  
OUVERTURE + DISTRIBUTION



**EXTRACTION DE SCREENING  
ANALYSES + RESULTATS**



**LISTE DES  
INTERDICTIONS**

**CONFIRMATION (si suspect)**

**SELON DEMANDE DE L'ATHLETE**



**B SAMPLE:**  
OUVERTURE  
DISTRIBUTION  
CONFIRMATION

**aveu,  
sanction,  
TAS**

**PRESENCE**  
→ Rapport



**ABSENCE**  
→ Rapport

# Substances dopantes



Liste interdiction



**1** Performance enhancer

**2** Real or potential health risk

**3** Use against ethic in sport

# LISTE DES INTERDICTIONS

[www.wada-ama.org/fr](http://www.wada-ama.org/fr)

## EN & HORS COMPETITION

- S0. Substances non approuvées
- S1. Agents anabolisants
- S2. Hormones peptidiques, de croissance, etc.
- S3. Beta-2 agonistes
- S4. Modulateurs hormonaux et métaboliques
- S5. Diurétiques et agents masquants

## EN COMPETITION

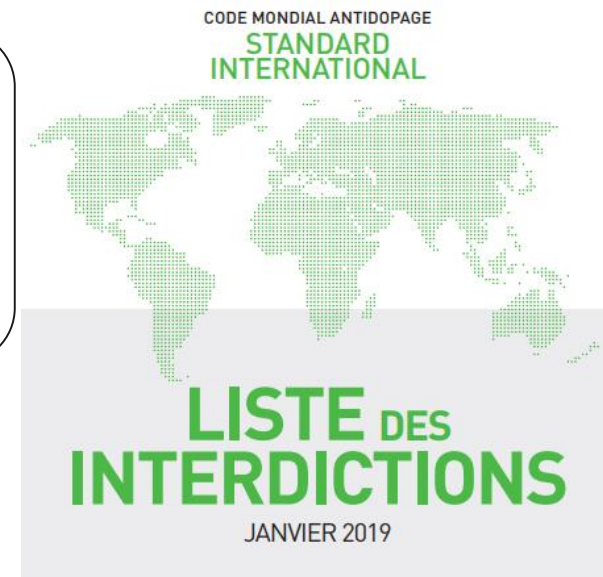
- S6. Stimulants
- S7. Narcotiques
- S8. Cannabinoïdes
- S9. Glucocorticoïdes

## DANS CERTAINS SPORTS

- P1. Alcool
- P2. Béta-bloquants

## METHODES INTERDITES

- M1. Manipulation de sang ou de composants sanguins
- M2. Manipulation chimique et physique
- M3. Dopage génétique

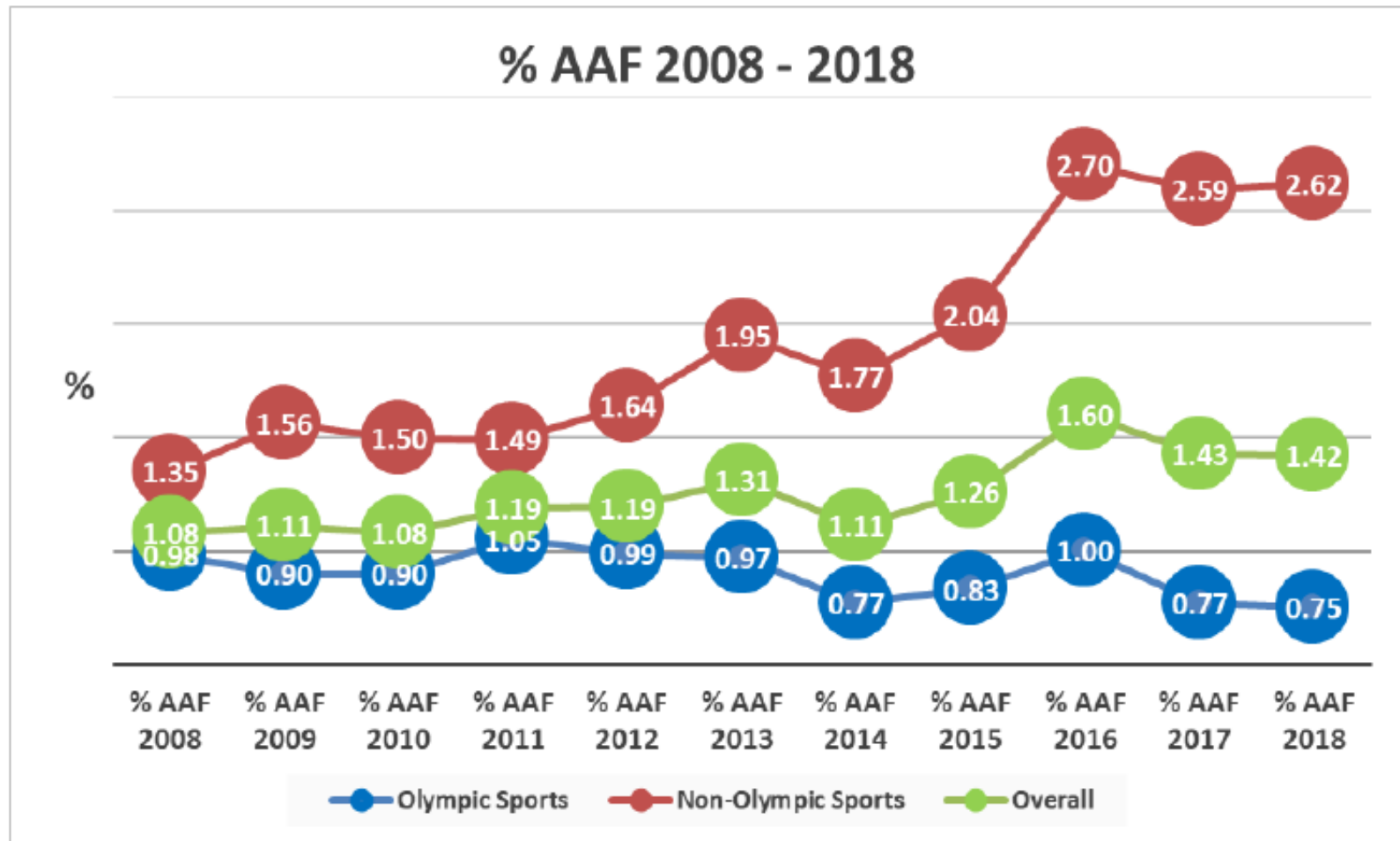


Le texte officiel de la Liste des interdictions sera tenu à jour par l'AMA et publié en anglais et en français.  
La version anglaise fera autorité en cas de divergence entre les deux versions.

Cette liste entrera en vigueur le 1<sup>er</sup> janvier 2019.



# Statistiques : échantillons positifs



# Statistiques : substances dopantes

Table 19: Summary - Substances Identified as AAFs in Each Drug Class in ADAMS (All Sports)

Substance Group	Occurrences	% of all ADAMS reported findings
S1 Anabolic Agents	1823	44%
S6 Stimulants	605	15%
S5 Diuretics and Other Masking Agents	589	14%
S4 Hormone and Metabolic Modulators	350	9%
S9 Glucocorticosteroids	284	7%
S3 Beta-2 Agonists	164	4%
S8 Cannabinoids	141	3%
S2 Peptide Hormones, Growth Factors and Related Substances	115	3%
S7 Narcotics	24	1%
P1 Beta-Blockers	18	0.4%
M1 Enhancement of Oxygen Transfer	3	0.07%
M2 Chemical and Physical Manipulation	1	0.02%
<b>TOTAL*</b>	<b>4117</b>	

# Résultat d'une prise massive d'anabolisant



Heidi Krieger, championne d'Europe en 1986 de lancer de poids. Celle-ci a subi en 1997 une opération pour changer de sexe, conséquence d'une longue prise de stéroïdes, pour devenir Andreas Krieger, l'un des principaux accusateurs du système de dopage organisé par l'Etat est-allemand

# Les anabolisants

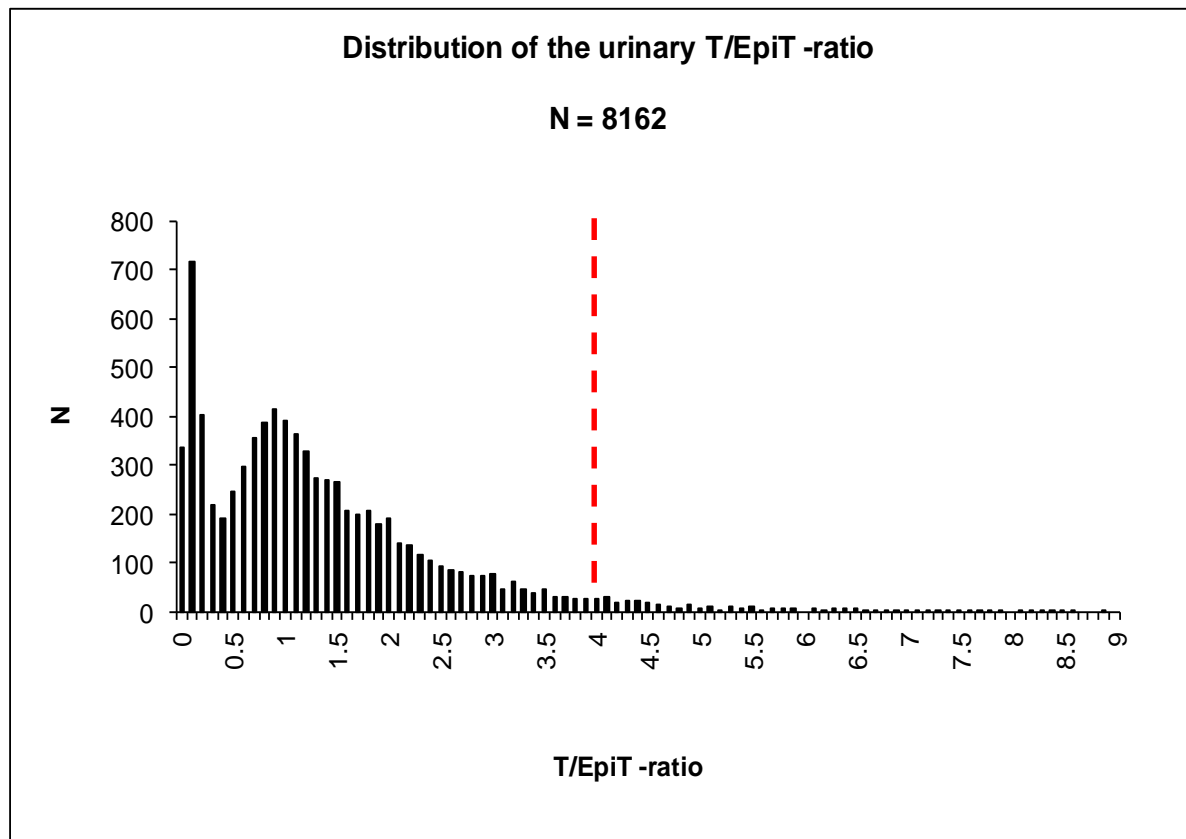


Floyd Landis



# Détection de la testostérone

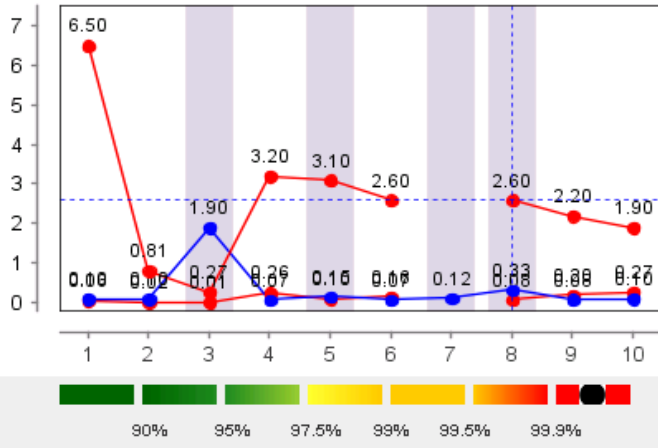
- Mesure indirect Testostérone/Epi-testostérone (T/E)



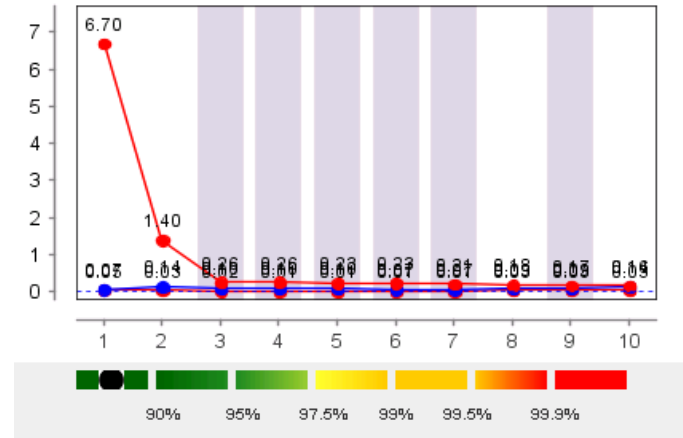


# Exemples de profiles T/E ratio

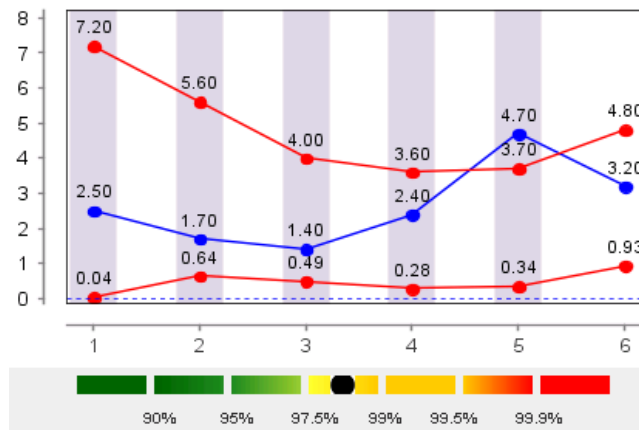
T/E



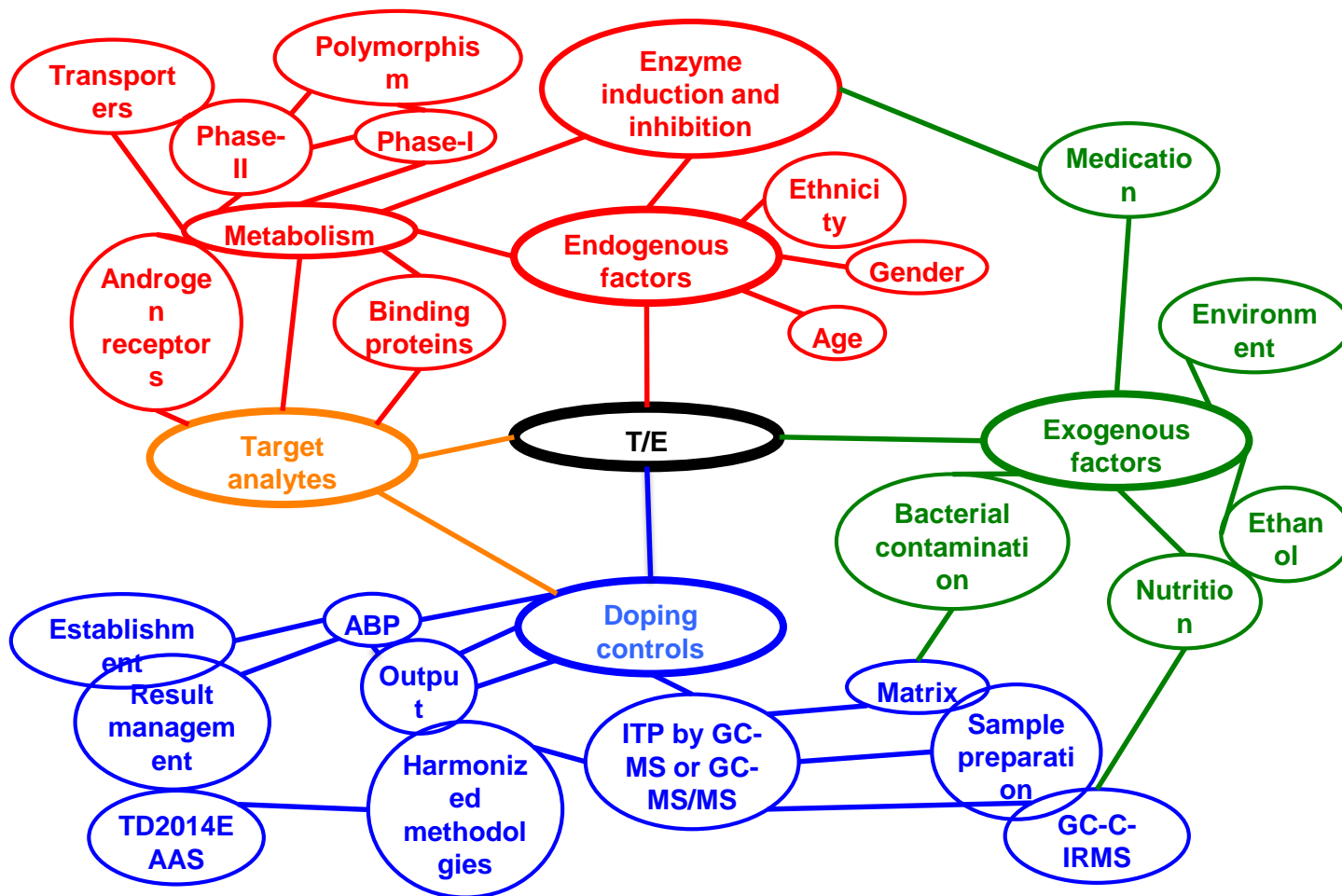
T/E



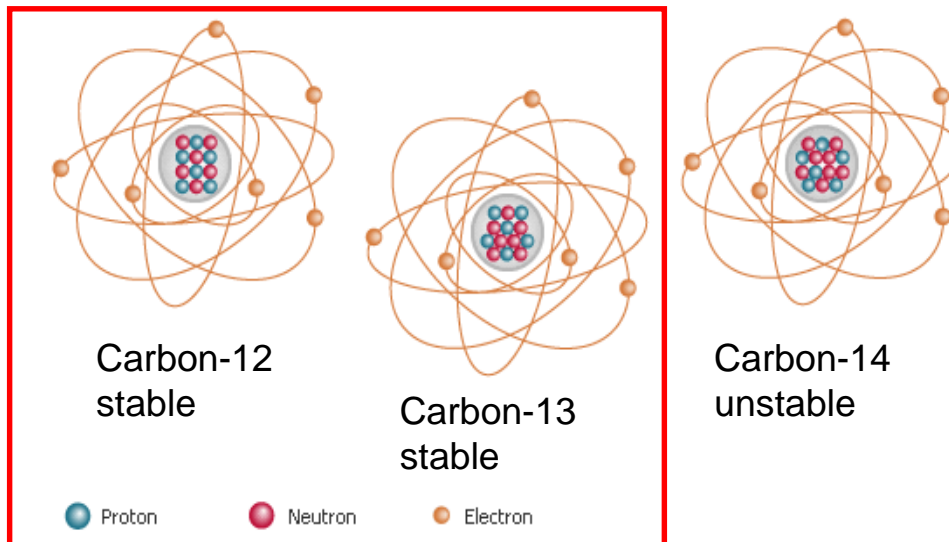
T/E



# Facteurs confondants



# Isotopes de carbone dans la nature



# Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS)

Measurement of isotopic composition of steroids of interest

$^{13}\text{C}$  and  $^{12}\text{C}$  are stable isotopes of carbon

Natural isotopic fractionation

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  is diet dependant

Exogenous Testosterone



$C_3$  plants



$C_4$  plants



PDB  
(reference compound rich in  $^{13}\text{C}$ )

-50.0

-40.0

-30.0

-20.0

-10.0

0.0

+10.0

$\delta^{13}\text{C}$  compared with PDB [‰]

# Stimulant : cocaïne

- En 1999
  - Javier Sotomayor déclaré positif à la cocaïne
- En 2004
  - † Marco Pantani: gagnant du Giro et Tour de France 1998
    - Overdose of cocaïne



- En 2007
  - Martina Hingis



- En 2009
  - Richard Gasquet



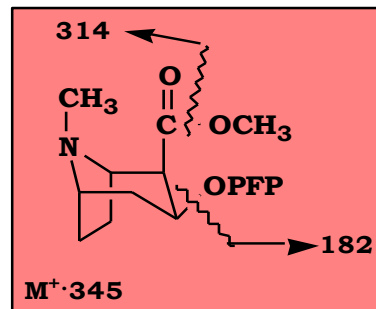
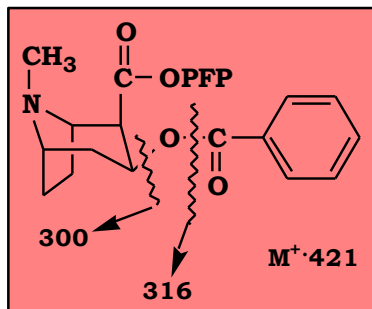
# Détection de la cocaïne dans l'urine

- La Cocaïne principalement et rapidement métabolisés en **methylecgonine (ME)** et **benzoylecgonine (BE)**.

- Flemming et al., 1990

- BE aet ME sont détectés par GC/MS après dérivatization

- pentafluoropropionyl (PFP)



Anesthesiology  
73:518-531, 1990

## Pharmacology and Therapeutic Applications of Cocaine

Julia A. Fleming, M.B., B.S., F.F.A.R.A.C.S.,\* Robert Byck, M.D.,† Paul G. Barash, M.D.‡

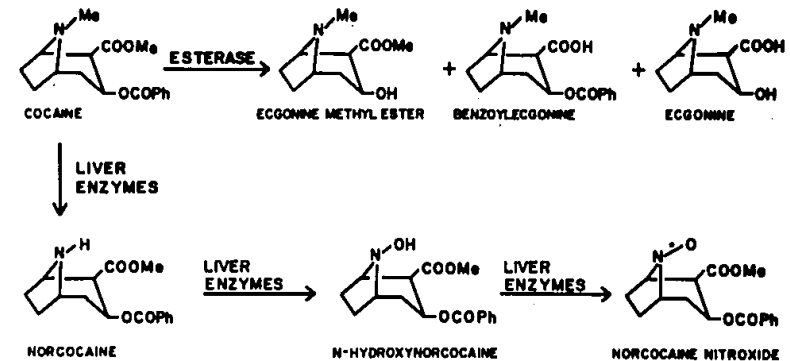
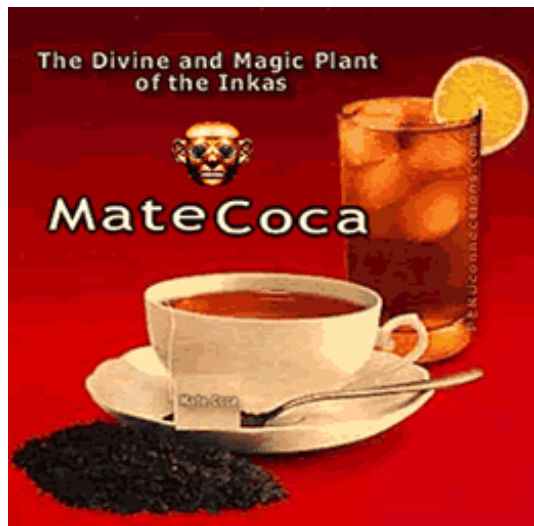


FIG. 3. Proposed metabolic pathways for hydrolysis and oxidation of cocaine. N-hydroxynorcocaine and norcocaine nitroxide have been found in animal studies. It has been suggested that these metabolites play a role in hepatotoxicity of cocaine in certain animal species. (Reproduced with permission.<sup>37</sup>)

# Cas positif...Gilberto Simoni

- Il a consommé du thé qui contenait de la cocaïne (Mate de coca) reçu de sa belle-mère de Colombie...

→ Plausible???



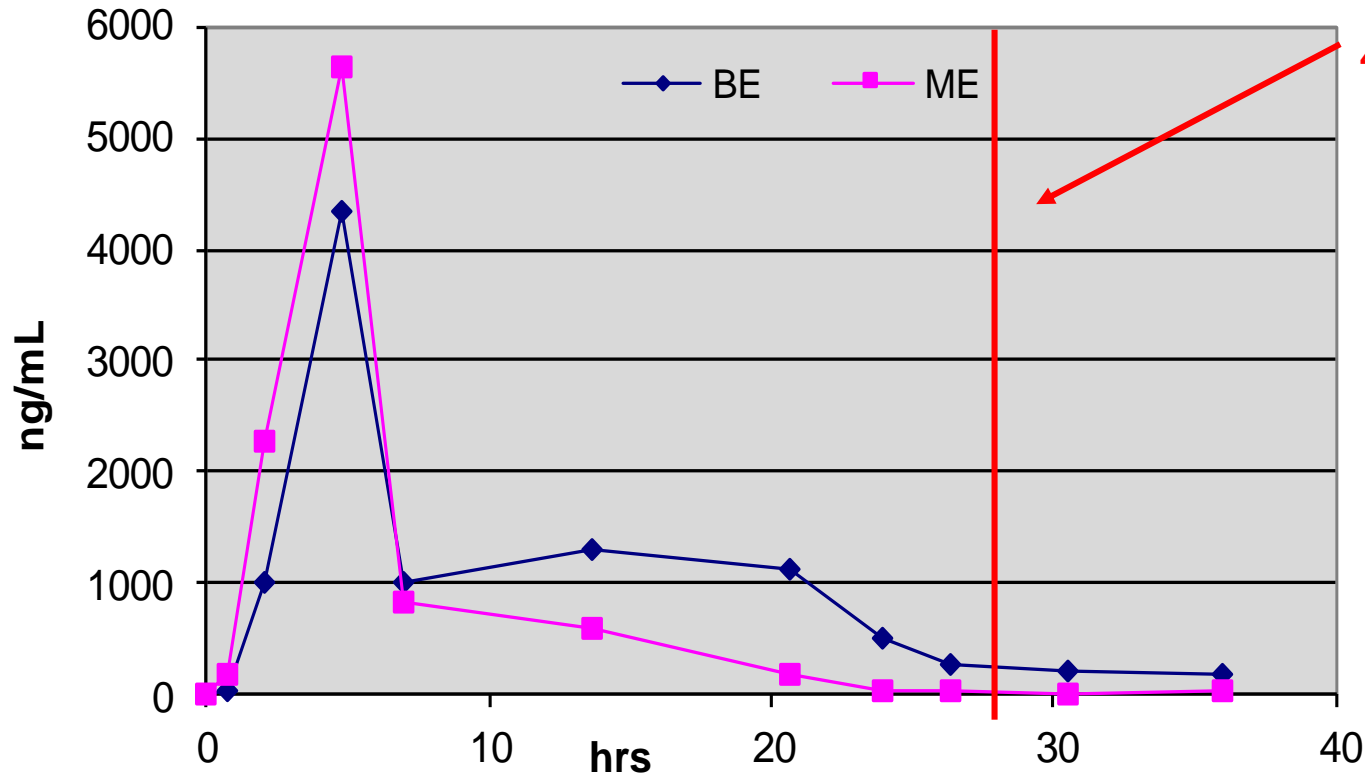
# Etude d'excrétion avec un volontaire

1 sachet de thé dans 200 mL H<sub>2</sub>O

Echantillon coureur

181 BE

45 ME



Une infusion contenait 1.3 mg of cocaïne



# La fin...

- Décision of the Italian Cycling Union
  - Après plusieurs mois de retrait volontaire du coureur
  - → **Innocenté** pour faute involontaire

## En 2004, WADA publie le principe de «strict liability»

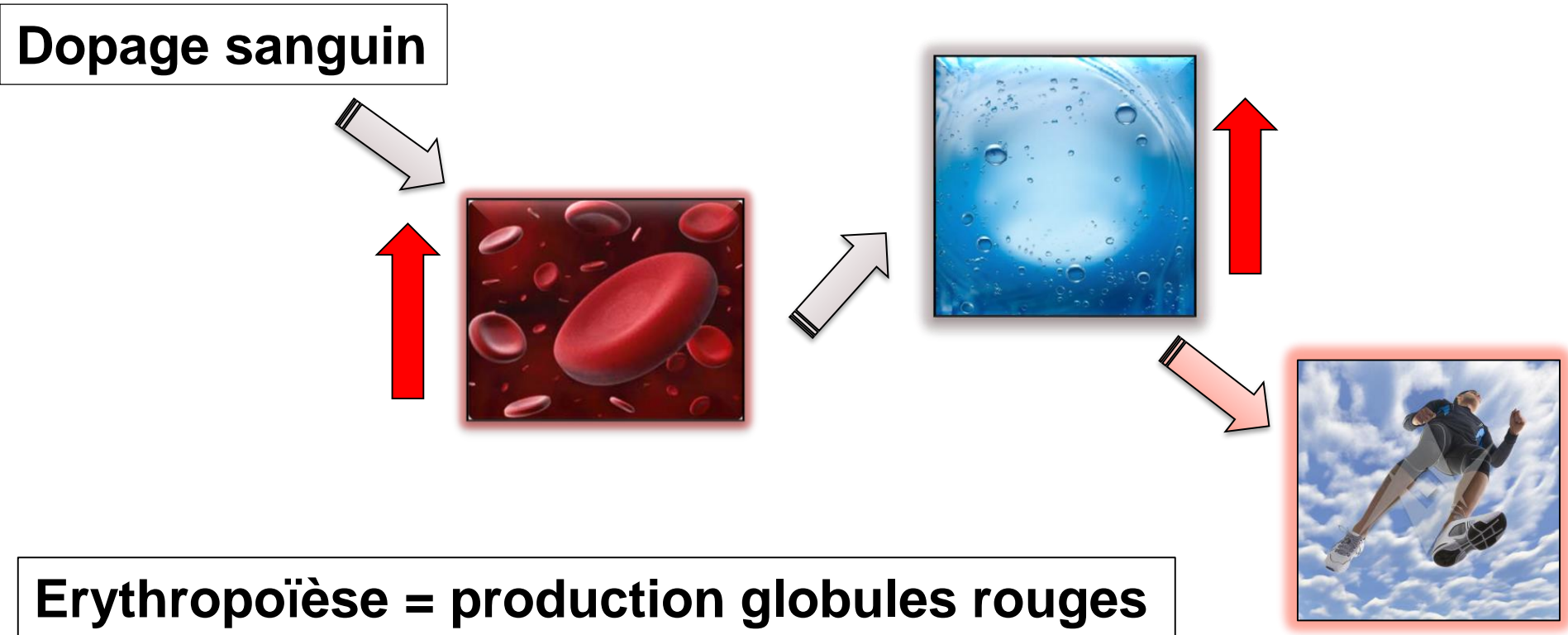
### 2.1 Presence of a *Prohibited Substance* or its *Metabolites* or *Markers* in an *Athlete's Sample*

- 2.1.1 It is each *Athlete's* personal duty to ensure that no *Prohibited Substance* enters his or her body. *Athletes* are responsible for any *Prohibited Substance* or its *Metabolites* or *Markers* found to be present in their *Samples*. Accordingly, it is not necessary that intent, fault, negligence or knowing *Use* on the *Athlete's* part be demonstrated in order to establish an anti-doping violation under Article 2.1.

*[Comment to Article 2.1.1: An anti-doping rule violation is committed under this Article without regard to an Athlete's Fault. This rule has been referred to in various CAS decisions as "Strict Liability". An Athlete's Fault is*

*taken into consideration in determining the Consequences of this anti-doping rule violation under Article 10. This principle has consistently been upheld by CAS.]*

# DOPAGE SANGUIN



# FACTEURS CONFONDANTS

---

## Entraînement en altitude



Caisson hypoxique

# TRANSFUSION SANGUINE AUTOLOGUE (TSA)



**DONATION**



**STOCKAGE**



**RÉ-INFUSION**

# TRANSFUSION SANGUINE AUTOLOGUE (TSA)



Film : Program

Max Hauke



# TSA : BIOMARQUEURS

---



**DONATION**



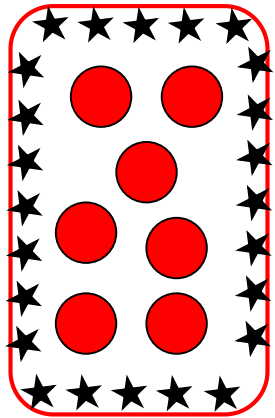
**STOCKAGE**



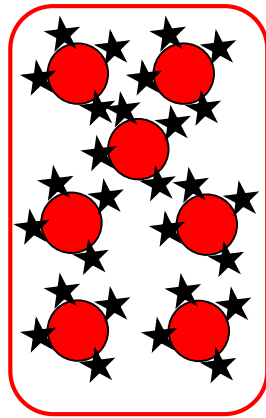
**RÉ-INFUSION**

# BIOMARQUEURS : MOLÉCULES DE PLASTIQUE

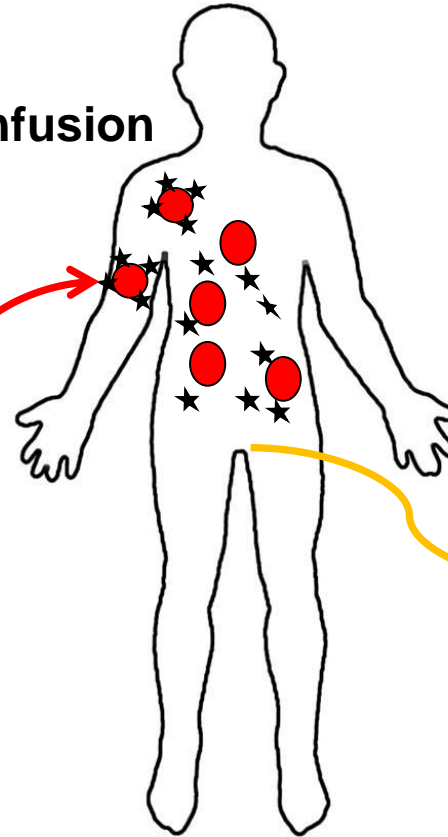
Donation



Stockage



Ré-infusion



Echantillon urinaire

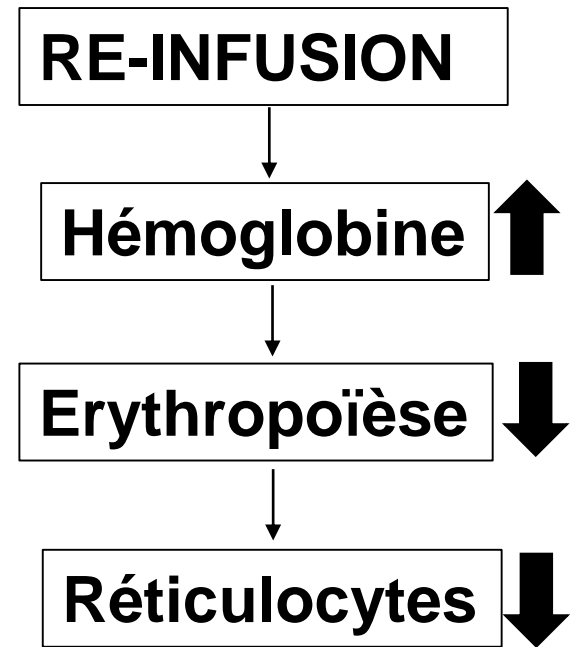
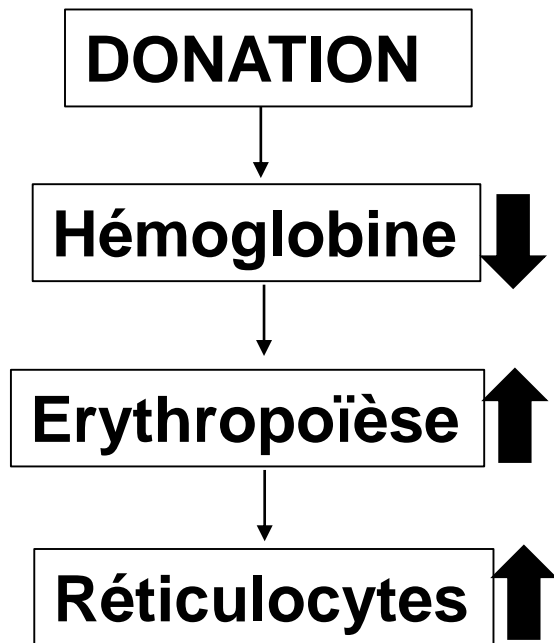


★ Molécule plastique

● Globule rouge

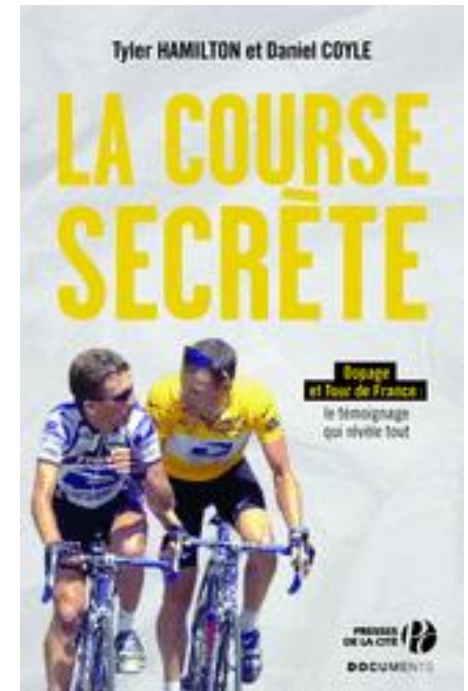
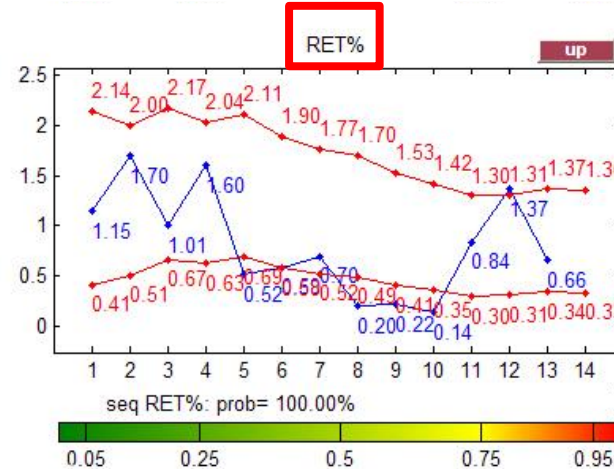
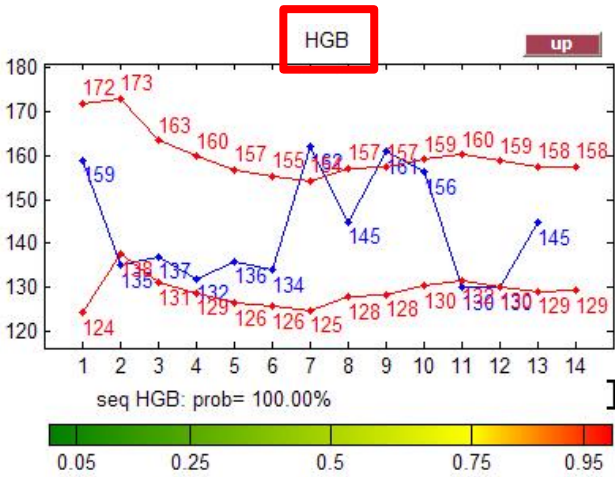
# Passeport biologique de l'athlète (PBA)

## Module hématologique





# Passeport biologique de Tyler Hamilton



# Take home messages

---

- 1 seul laboratoire anti-dopage en Suisse
- Surveillance par l'Agence Mondiale Anti-dopage
- Spécificité de la contre-expertise
- Les anabolisants sont les substances dopantes les plus utilisées
- Certaines substances sont seulement interdites en compétition
- Le passeport biologique de l'athlète est une bonne stratégie dans l'anti-dopage

# MERCI POUR VOTRE ATTENTION !

LE TOUR DE FRANCE ENCOURAGE LE TRI DES DÉCHETS

