

## Les mesures à prendre en matière de détection

**Docteur Lidia AVOIS**

**Responsable analytique du Laboratoire d'analyse du dopage de Lausanne**

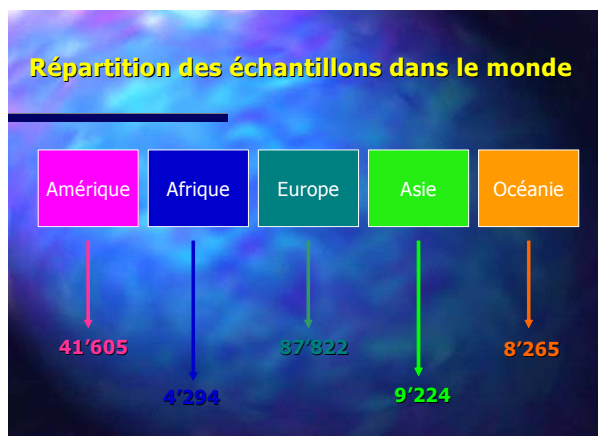
J'évoquerai les problématiques qui, au quotidien, se présentent aux chercheurs des laboratoires de contrôle du dopage. Ceux-ci réalisent environ 150 000 contrôles par an, dont 1,6 % se révèlent positifs. En tête des substances détectées figurent les stéroïdes anabolisants, en fin de liste les hormones peptidiques, essentiellement en raison des difficultés inhérentes à leur détection.

Echantillons analysés dans le monde	
Football:	20'104
Athlétisme:	18'876
Cyclisme:	12'352
Sports aquatiques:	9'270
Haltérophilie:	5'347
Basketball:	3'872
Canoe/Hockey/Judo/ Aviron/Patinage/Tennis/ Volley/lutte	2'000 à 3'000
Rugby	4'978

Substances retrouvées par les laboratoires		
Stéroïdes anabolisants:	872	32.1%
Stimulants:	516	19.0%
Cannabinoïdes:	378	13.9%
Beta-2-agonistes:	297	10.9%
Corticostéroïdes:	286	10.5%
Agents masquants:	142	5.2%
Hormones peptidiques:	79	2.9%

La majorité des laboratoires accrédités se trouvent en Europe, cinq en Amérique, six en Asie, deux en Afrique et un en Océanie. Par conséquent, la grande majorité des contrôles est effectué en Europe.

Les laboratoires accrédités dans le monde			
Amérique	Afrique	Europe	Asie
Montreal Rio de Janeiro Bogota La Habana Los Angeles	Bloemfontein Tunis	Athènes London Barcelona Madrid Cologne Moscou Gand Oslo Helsinki Paris Kreischka Rome Lausanne Stockholm Lisbonne Vienne	Ankara Bangkok Beijing Penang Seoul Tokyo Sydney



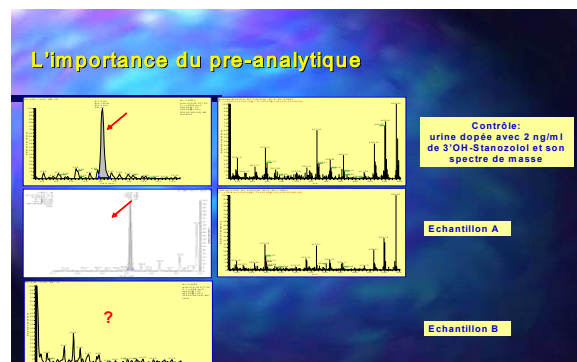
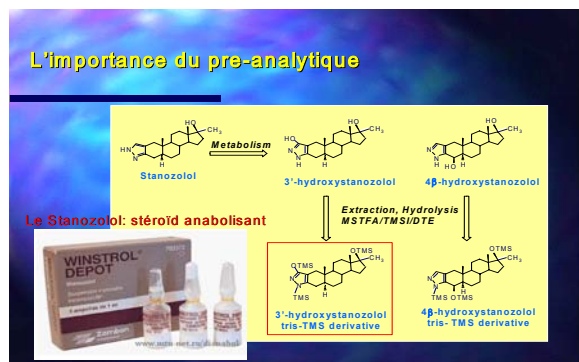
En amont, les laboratoires sont tributaires du travail pré-analytique de collecte des échantillons. Ils transmettent ensuite les résultats aux autorités pour, le cas échéant, le lancement de la procédure disciplinaire. Je souhaite donc évoquer les difficultés pouvant survenir à certains endroits de la chaîne avec les différents interlocuteurs.

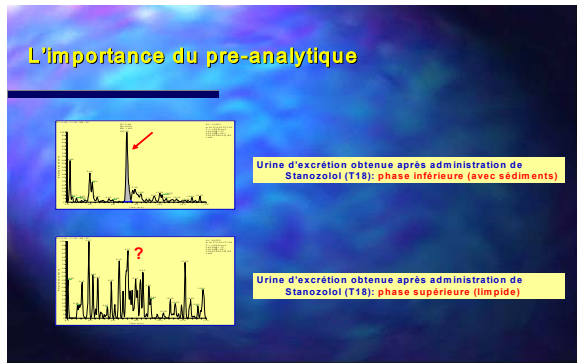
## I. L'importance du pré-analytique

C'est la phase de prélèvement urinaire ou sanguin, très coûteuse. Si l'échantillon n'est pas intègre, si le contenu en urine des flacons A et B sont différents alors qu'ils devraient être identiques, le travail du laboratoire est compromis, de même également lorsque le sang arrive congelé. Lorsque l'on examine des échantillons d'urine, on peut être confronté à diverses problématiques, comme par exemple : une urine trop diluée dans l'échantillon B par rapport à l'échantillon A (si le sportif a donné son urine en plusieurs étapes et en absorbant beaucoup de liquide), ou un flacon contenant des sédiments et pas l'autre.



Pour illustrer l'importance du travail pré-analytique, j'évoquerai le cas d'une urine dont l'échantillon A contenait un stéroïde anabolisant, le stanozolol, dont l'un des métabolites a été détecté. L'analyse de l'échantillon B, effectuée en présence de l'expert mandaté par l'athlète, n'a produit aucun résultat. L'hypothèse la plus probable dans ce cas était celle d'un problème lors du prélèvement urinaire : une expérience menée sur des urines positives de volontaires a mis en évidence la présence de la substance dans les sédiments et son absence dans le surnageant. Lorsque le prélèvement dure longtemps, l'urine se décante. Dans ce cas précis, lors du remplissage des flacons, le surnageant a été mis dans le flacon B et le restant avec les sédiments est allé dans l'échantillon A. Avant de remplir les flacons, le mélange s'avère donc très important pour que l'urine soit strictement identique dans les deux flacons.





## II. Les exigences du post-analytique

Le bon déroulement de cette phase dépend du travail effectué au laboratoire, de plus en plus attaqué par les avocats des sportifs incriminés. Bien entendu, la fiabilité des résultats est d'une importance capitale. De plus en plus, avec une fréquence croissante, les scientifiques des laboratoires sont amenés à se défendre devant les tribunaux, dans un rôle bien éloigné de leur formation. Ainsi, le Laboratoire a, à plusieurs reprises, reçu le soutien des services d'accréditation dans sa défense.

Ces exigences sont tout à fait acceptées par le Laboratoire de Lausanne qui s'est doté de la norme ISO 17 025 imposant des procédures lourdes au quotidien et a adhéré au Code de l'AMA pour une harmonisation des analyses.

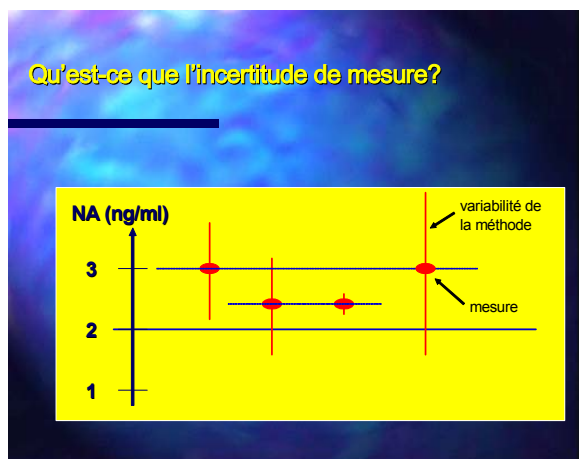
## III. Les exigences de qualité

Les garants de la qualité des analyses sont le Service d'Accréditation Suisse, l'Association des laboratoires antidopage (WAADS) et l'AMA, qui émet les directives pour les laboratoires.

Tous les laboratoires mettent en place des contrôles qualité et des audits internes, afin d'évaluer les techniques, les équipements, les procédures et le personnel. Des audits externes sont également menés par les organisations suscitées. L'évaluation de la performance analytique consiste à s'assurer que les méthodes d'analyse permettent, de façon fiable, de détecter la présence d'une substance dans l'urine. A chaque substance correspond une méthode d'analyse évaluée grâce à une série de critères comme la spécificité, la reproductibilité, la robustesse, et l'incertitude.

Le terme « incertitude de mesure » a été soulevé dans le cas de la nandrolone, dont le seuil de positivité est fixé par l'AMA à 2 ng/ml. On a pu relever les nombreux cas où le taux mesuré approchant le seuil, se sont présentés. Même avec l'analyse de plusieurs aliquots de l'urine incriminée, il faut tenir compte de l'incertitude de la mesure, soit la variabilité de la méthode, qui dépend de la substance analysée et de la performance du laboratoire. Le laboratoire a donc dû calculer cette incertitude globale, qui est fonction de trois variables :

- l'incertitude liée à la reproductibilité analytique, c'est-à-dire aux appareils utilisés ;
- l'incertitude liée à la régression linéaire ;
- l'incertitude liée à l'extraction, qui résulte de l'imprécision infime mais inévitable du matériel.



Calcul de l'incertitude...

Formule générale

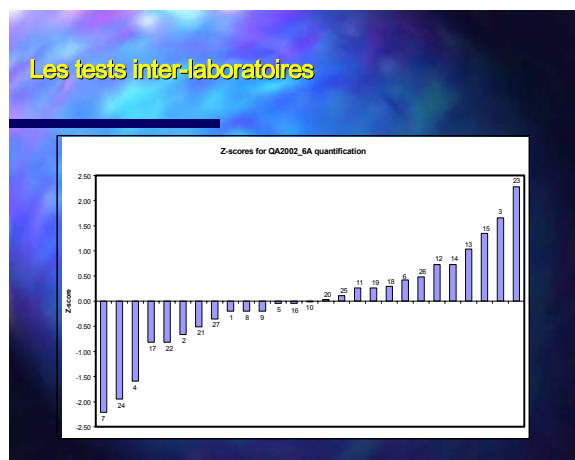
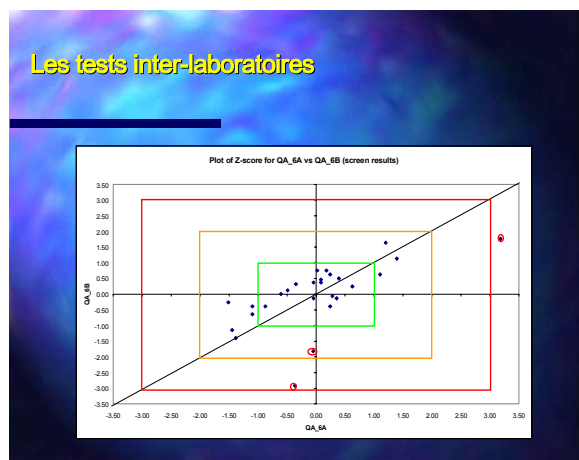
$$U_{total} = \sqrt{\sum U_i^2}$$

Formule appliquée à la Nandrolone

$$U_{total} = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}$$

$U_1$ : incertitude liée à la reproductibilité analytique (appareillage)  
 $U_2$ : incertitude liée à la régression linéaire (droite de calibration)  
 $U_3$ : incertitude liée à l'extraction (verrerie, agitation, hydrolyse, dérivatisation)

Les calculs ont abouti à une imprécision d'environ 20 % pour la nandrolone. Les tests inter-laboratoires permettent également d'estimer l'exactitude du résultat fourni. Ces tests sont effectués sur les analyses de *screening* ou les méthodes de confirmation (qualitative ou quantitative).



Les performances analytiques ou plus précisément, la notion d'incertitude, par rapport à une substance précise, est indiquée sur le rapport d'analyse et reportée dans le dossier analytique complet envoyé à la fédération et éventuellement débattu par la suite au tribunal.

#### IV. Quelques réflexions et sujets de discussion

Des diverses expériences vécues au Laboratoire, j'ai tiré un ensemble de constats. La nécessité d'une harmonisation entre les laboratoires me semble incontestable pour assurer une équité de traitement entre les sportifs. Il faut savoir que la variabilité entre individus demeure bien supérieure aux disparités entre laboratoires, car certains métabolismes assimilent bien plus rapidement les substances que d'autres, comme l'a montré un récent test effectué au Laboratoire concernant l'administration de nandrolone sous forme de collyre. Je préconise donc de se donner les moyens de connaître la Science avant d'établir des règles. Il faut être conscient que les fédérations, les tribunaux posent parfois des questions qui restent encore sans réponse ... faute d'avoir investigué scientifiquement le problème.

D'autres part, comme l'a souligné Alain GARNIER, il me semble nécessaire d'établir des statistiques intelligentes susceptibles de rendre compte de variations biochimiques anormales chez le sportif, déjà en place pour le suivi hématologique. Une procédure est en cours d'élaboration pour le suivi du rapport T/E endogène, qui permettrait de déclencher un test IRMS en cas de variations suspectes, sans se fonder uniquement sur le seuil de 4. Enfin, si les laboratoires antidopage sont conscients d'une nécessité d'adaptation aux exigences des tribunaux (domaine forensique), on ne peut néanmoins laisser le juridique prendre le pas sur la Science : des résultats clairement positifs du point de vue analytique et remis en question par des vices de procédure, portant sur des détails et dont l'impact est non pertinent sur le résultat lui-même, découragent les chercheurs.