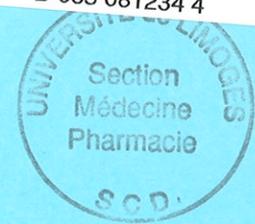
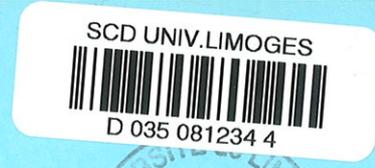


UNIVERSITE DE LIMOGES  
Faculté de Pharmacie



ANNEE 2002

THESE N° 3301A

**ROLE DES CONTAMINANTS ALIMENTAIRES  
DANS LE CONTROLE ANTIDOPAGE CHEZ LE  
CHEVAL : ETUDE DE L'ATROPINE, LA  
SCOPOLAMINE,  
LA CAFEINE ET LA THEOBROMINE**

**THESE**

POUR LE  
DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 18 Octobre 2002

par

Marion BENOIT

née le 01 mai 1976 à Brive-la-Gaillarde (Corrèze)

**EXAMINATEURS DE LA THESE**

Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard..... -Président  
Monsieur BONNAIRE Yves, Docteur eS Sciences pharmaceutiques...-Juge  
Monsieur COMBY Francis, Maître de conférences..... -Juge  
Madame HYLLAIRE Geneviève, Docteur en pharmacie.....-Juge

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

---

DOYEN DE LA FACULTE

Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard

ASSESEURS

Madame le Professeur **CHULIA** Dominique

Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

PROFESSEURS

**BENEYTOUT** Jean-Louis

BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE

**BOSGIRAUD** Claudine

BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE - PARASITOLOGIE

**BOTINEAU** Michel

BOTANIQUE - CRYPTOLOGAMIE

**BROSSARD** Claude

PHARMACIE GALENIQUE

**BUXERAUD** Jacques

CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE

**CARDOT** Philippe

CHIMIE ANALYTIQUE

**CHULIA** Albert

PHARMACOGNOSIE

**CHULIA** Dominique

PHARMACIE GALENIQUE

**DELAGE** Christiane

CHIMIE GENERALE - CHIMIE MINERALE

**DREYFUSS** Gilles

PARASITOLOGIE

**DUROUX** Jean-Luc

PHYSIQUE - BIOPHYSIQUE

**GHESTEM** Axel

BOTANIQUE - CRYPTOLOGAMIE

**HABRIOUX** Gérard

BIOCHIMIE FONDAMENTALE

**LACHATRE** Gérard

TOXICOLOGIE

**MOESCH** Christian

HYGIENE - HYDROLOGIE - ENVIRONNEMENT

**LOUDART** Nicole

PHARMACODYNAMIE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

Madame **ROCHE** Doriane

A notre président de thèse,

Monsieur G. HABRIOUX, professeur des Universités de biochimie et Doyen de la Faculté de pharmacie qui a inspiré et dirigé cette étude. Nous lui savons gré de la gentillesse et de la patience dont il a fait preuve, et nous le remercions sincèrement de nous avoir fait profiter de ses précieux conseils durant l'élaboration de ce travail.

Aux membres du jury,

Nous remercions vivement Monsieur Y. BONNAIRE, Docteur eS sciences pharmaceutiques et Directeur du Laboratoire de la Fédération Nationale des Courses Françaises d'avoir accepté de diriger activement de cette étude et de nous avoir apporté sa haute compétence. C'est pour nous un grand honneur de le compter parmi nos juges.

Nous tenons à remercier Monsieur F. COMBY, Maître de conférence de chimie thérapeutique, ainsi que Madame G. HYLLAIRE, Docteur en pharmacie, de l'honneur qu'il nous font de siéger dans ce jury.

A mes parents,  
qui m'ont toujours encouragée et soutenue durant ces années d'études ;  
que ce travail soit le témoignage de ma profonde affection.

A Fabien,  
pour son soutien moral et sa patience jusqu'à l'aboutissement de ce travail.

A mon frère,  
pour sa participation aux travaux expérimentaux et son soutien.

A toute ma famille,  
en particulier mes grand-parents, ma grand-tante et mon oncle,  
avec toute mon affection.

A mes amis,  
avec toute ma fidélité.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, notamment le personnel du Haras National de Pompadour pour sa fructueuse collaboration technique.

# PLAN

## INTRODUCTION

### PREMIERE PARTIE : ASPECTS REGLEMENTAIRES

1. INTRODUCTION
2. QUELQUES DATES
3. TEXTE DE REFERENCE
  - 3.1. Le code des courses
  - 3.2. Principe général et substances prohibées
    - 3.2.1. Principe général
    - 3.2.2. Les substances interdites
  - 3.3. Le prélèvement biologique et son analyse
    - 3.3.1. les prélèvements biologiques
    - 3.3.2. L'analyse des prélèvements
  - 3.4. Les sanctions des prélèvements positifs
    - 3.4.1. Sanctions applicables au cheval
    - 3.4.2. Sanctions applicables à l'entraîneur
4. MESURES PREVENTIVES
  - 4.1. Les données essentielles
  - 4.2. La médication
    - 4.2.1. Principes à respecter
    - 4.2.2. Les substances autorisées
5. CONCLUSION

### DEUXIEME PARTIE : LES CONTAMINANTS

#### ALIMENTAIRES

1. INTRODUCTION
2. L'ALIMENTATION DU CHEVAL
  - 2.1. généralités

- 2.2. les aliments traditionnels
  - 2.2.1. les fourrages
  - 2.2.2. les grains
- 2.3. les aliments industriels
- 3. ETUDE DES CONTAMINANTS ALIMENTAIRES
  - 3.1. les molécules mises en cause
    - 3.1.1. alcaloïdes tropaniques
    - 3.1.2. alcaloïdes puriques
  - 3.2. origine de la contamination alimentaire
    - 3.2.1. quels aliments suspectés ?
    - 3.2.2. quelles plantes ?
- 4. CONCLUSION

### **TROISIEME PARTIE :**

#### **ETUDE EXPERIMENTALE**

- 1. INTRODUCTION
- 2. PRESENTATION DE L'ETUDE PILOTE
  - 2.1. objectifs
  - 2.2. protocole expérimental
    - 2.2.1. mise en place de l'expérimentation
    - 2.2.2. nourriture et supplémentation
    - 2.2.3. prélèvements urinaires
  - 2.3. phase analytique
    - 2.3.1. principe général
    - 2.3.2. méthodes et conditions d'analyse relatives à l'expérimentation
    - 2.3.3. limites de détection
- 3. ANALYSE DES ALIMENTS
  - 3.1. alimentation quotidienne
  - 3.2. composition des granulés
  - 3.3. contrôle des aliments
    - 3.3.1. réception et analyse des échantillons
    - 3.3.2. conséquences des résultats obtenus

#### 4. DETERMINATION DES DOSES A ADMINISTRER

##### 4.1. rappels pharmacocinétiques

###### 4.1.1. absorption et distribution

###### 4.1.2. métabolisme et élimination

##### 4.2. calcul des doses expérimentales

###### 4.2.1. calcul du minimum minimorum

###### 4.2.2. calculs à partir des données de la littérature

#### 5. EXPERIMENTATION

##### 5.1. introduction

##### 5.2. expérimentation 1

###### 5.2.1. protocole d'administration

###### 5.2.2. résultats de l'expérimentation 1

##### 5.3. expérimentations 2 et 3

###### 5.3.1. expérimentation 2

###### 5.3.2. expérimentation 3

#### 6. CONCLUSION

### **CONCLUSION GENERALE**

### **BIBLIOGRAPHIE**

# **INTRODUCTION**

# INTRODUCTION

Pourquoi s'intéresser au dopage équin ?

Depuis quelques années, les médias se sont emparés du phénomène du dopage, décrivant notamment de nombreuses affaires dans le cyclisme. Cependant, dans le monde du cheval, même si le dopage est peu médiatisé, il est néanmoins présent.

En effet, au niveau des courses, il existe des enjeux financiers considérables. La recherche permanente de la performance peut entraîner des comportements frauduleux. Le cheval de course est un véritable athlète et sa préparation physique similaire à un sportif de haut niveau. C'est pourquoi, au même titre que le sportif, son entraîneur peut être amené à utiliser des produits dopants pour aider un cheval à se surpasser ou bien masquer une blessure.

Pour lutter contre le développement de ces méthodes frauduleuses, il existe une réglementation bien précise et de nombreux contrôles, pour tout cheval déclaré à l'entraînement dans une écurie de course. Une liste de catégories de substances interdites a notamment été établie par les autorités compétentes.

Cependant, certains contrôles se sont révélés positifs alors que l'entraîneur affirmait n'avoir eu recours à aucune thérapeutique illicite. Il s'est avéré que les substances mises en cause, pouvaient provenir de l'alimentation : dopage que l'on peut qualifier de non intentionnel (1).

En effet, les molécules impliquées le plus fréquemment lors de ces contrôles positifs, se retrouvent dans l'alimentation pour deux raisons :

- l'aliment peut être pollué suite à une contamination de la chaîne de fabrication ou d'un stockage inapproprié ;
- ou bien, il peut s'agir de constituants naturels de l'aliment (1).

Il est difficile pour le fabricant et pour l'utilisateur de s'assurer que l'aliment est exempt de toute substance pouvant être considérée comme dopante.

En collaboration avec le L.A.B de Châtenay-Malabry, une étude pilote consacrée aux contaminants alimentaires a été mise en place.

Les molécules étudiées sont les suivantes :

- la caféine
- la théobromine
- l'atropine
- la scopolamine

Cette étude expérimentale se déroule selon un protocole bien précis, sur un effectif de chevaux réduit, afin de déterminer la dose à partir de laquelle un cheval pourra être contrôlé positif. Le but est donc de connaître la dose journalière tolérable (DJT) des polluants les plus fréquemment rencontrés chez le cheval, afin de ne pas « positiver » les contrôles réalisés.

Les expérimentations animales sont réalisées sur le site des Haras Nationaux de Pompadour. Elles consistent à effectuer, après une administration par voie orale de chacune des molécules précitées, des prélèvements puis des dosages urinaires.

La première partie de cette étude est consacrée à des généralités concernant le dopage : sa réglementation et sa prévention en ce qui concerne les courses hippiques ; la seconde partie à l'expérimentation en elle-même avec :

- en premier lieu, une étude spécifique des quatre molécules choisies ;
- et en second lieu, l'analyse expérimentale.

**PREMIERE PARTIE :**  
**ASPECTS REGLEMENTAIRES**

# **ASPECTS REGLEMENTAIRES**

## **1. INTRODUCTION**

Tout d'abord, il convient de préciser les motifs qui ont conduit à prévoir une répression de l'acte de dopage. Il faut s'intéresser non seulement au respect de la régularité des courses, mais aussi à la protection de la santé de l'animal (2).

Un cheval doit être apte à gagner une course par ses propres moyens, sans que l'on ait recours à des artifices chimiques. Ceci est très important sur le plan de l'élevage : la performance d'un cheval doit être attribuable uniquement à ses qualités intrinsèques, car la sélection des futurs reproducteurs est basée principalement sur les résultats obtenus par ce cheval au cours de sa carrière (2).

D'autre part, l'intégrité des courses doit être respectée car il existe des enjeux considérables au niveau du Pari Mutuel Urbain. Si les chevaux sont dopés, les parieurs risquent d'être dupés !

En ce qui concerne le bien-être du cheval (welfare pour les anglo-saxons), il faut noter qu'une substance active est toujours potentiellement toxique. L'administration de médicaments par des personnes non qualifiées peut donc se révéler dangereuse pour l'animal. De plus, masquer une douleur qui est un signal d'alarme, peut engendrer des risques importants pour le cheval.

## **2. QUELQUES DATES**

Pourtant, depuis des temps reculés, l'homme a essayé d'accroître artificiellement les performances du cheval. Par exemple, des entraîneurs américains utilisèrent

les premiers alcaloïdes en 1890. Cette pratique fut ensuite introduite en Europe puis en France en 1901 (1).

Les premières mesures seront adoptées dès 1903. Cependant, il est encore difficile de dépister les fraudes compte tenu du moindre avancement de la chimie analytique et des méthodes de détection (1).

Ce n'est qu'au début des années 50, que les premières analyses pour le contrôle antidopage ont été mises en place au laboratoire de toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris. Celui-ci fut délocalisé à Châtenay-Malabry où sont situés les locaux actuels du laboratoire de la Fédération Nationale des Courses Françaises depuis 1973 (3).

Aujourd'hui, ce laboratoire gère plus de 25 000 prélèvements par an et permet ainsi de mieux lutter contre l'essor du dopage grâce à des méthodes de détection très performantes (3).

### **3. TEXTE DE REFERENCE**

#### **3.1. Le code des courses**

Les sociétés de courses hippiques ne sont pas des fédérations agréées par le Ministère de la Jeunesse et des Sports mais dépendent du Ministère de l'Agriculture.

On distingue deux sociétés :

- une pour les courses de trot : *Le Cheval Français*
- une pour les courses de galop : *France Galop*

Il existe donc deux codes des courses dont les textes sont très voisins : aucune distorsion ne doit apparaître entre eux pour qu'ils soient approuvés par le

Ministère de l'Agriculture conformément aux dispositions de l'article 12 du décret n° 97-456 du 5 mai 1997.

Le code des courses (établi par le comité de France Galop) consacre son deuxième titre à l'organisation des courses et au contrôle de leur régularité.

Au niveau du chapitre X, la 2° partie porte sur le contrôle de l'absence de substance prohibée dans le prélèvement biologique effectué sur le cheval et donc de l'absence d'administration d'un produit ou d'un traitement interdit.

## **3.2. Principe général et substances prohibées**

Ces deux notions sont définies au niveau de l'article 198 du code des courses.

### **3.2.1. Principe général**

Il est acté qu'un cheval entraîné en France ou entraîné à l'étranger et engagé dans une course en France, « ne doit pas avoir fait l'objet de l'administration d'un stéroïde anabolisant, d'un facteur de croissance, d'une substance agissant sur l'érythropoïèse ou d'un transporteur d'oxygène synthétique, ni receler une telle substance dans ses tissus, fluides corporels ou excrétiens ».

« Il ne doit également pas receler dans ses tissus... une autre substance prohibée dont la présence ne peut être justifiée par l'administration d'un traitement prescrit par une ordonnance ».

Il est donc autorisé d'utiliser certaines substances médicamenteuses pour soigner un cheval à l'entraînement si celles-ci sont prescrites par un vétérinaire. Par contre, un cheval déclaré partant dans une course ne doit receler aucune substance prohibée ou l'un de ses métabolites dans son organisme.

### 3.2.2. Les substances interdites

Une substance prohibée est une substance appartenant à l'une des catégories de substances figurant en annexe 5 du code des courses. Il s'agit des catégories suivantes :

- substances agissant sur le système nerveux
- substances agissant sur le système cardio-vasculaire
- substances agissant sur le système respiratoire
- substances agissant sur le système digestif
- substances agissant sur le système urinaire
- substances agissant sur le système reproducteur
- substances agissant sur le système musculo-squelettique
- substances agissant sur le système hémolympatique et sur la circulation sanguine
- substances agissant sur le système immunitaire autres que celles qui sont présentes dans les vaccins agréés
- substances agissant sur le système endocrinien, les sécrétions endocrines et leurs homologues synthétiques
- substances antipyrétiques, analgésiques et anti-inflammatoires
- substances cytotoxiques
- agents masquants

L'analyse des prélèvements effectués ne doit pas faire apparaître la présence d'une substance prohibée, mais cependant il existe quelques exceptions. Il s'agit soit de substances endogènes, soit de substances provenant de la nourriture du cheval.

Pour certaines molécules des seuils ont été fixés. Un prélèvement ne peut alors être déclaré positif que si la concentration de la substance dépasse ce seuil.

Internationalement définis par les analystes et vétérinaires officiels et fixés par les commissaires de France Galop, les seuils ont été établis pour les substances présentées dans les tableaux 1a et 1b qui suivent :

**Tableau 1a : concentrations autorisées pour certaines substances endogènes**

SUBSTANCES	CONCENTRATION AUTORISEE	ORIGINE DE LA SUBSTANCE et PROPRIETES
Hydrocortisone	1 µg/ml d'urine	Substance endogène Glucocorticoïde à activité anabolisante, anti-inflammatoire, euphorisante...
Testostérone -pour les hongres -pour les femelles	0,02 µg/ml d'urine Rapport : Testostérone / épitestostérone =12 dans l'urine	Substance endogène Stéroïde anabolisant.
Méthoxytyramine	4µg de 3-méthoxytyramine par ml d'urine	Substance endogène Métabolite de la lévodopa utilisée pour stimuler la production endogène d'hormone de croissance.
Dioxyde de carbone	37 mmol/ml de plasma	Substance endogène Présent sous forme de bicarbonates permettant une meilleure « élimination » de l'acide lactique notamment.
Nandrolone	Rapport estrane-3β,17α-diol / 5(10)estrène-3β,17α-diol =1 dans l'urine	Substance endogène anabolisante.

**Tableau 1b : concentrations autorisées pour certaines substances pouvant provenir de l'alimentation**

SUBSTANCES	CONCENTRATION AUTORISEE	ORIGINE DE LA SUBSTANCE et PROPRIETES
Arsenic	0,3 µg/ml d'urine	Alimentation naturelle Connu historiquement pour ces propriétés toniques.
Diméthyl sulfoxide	15 µg/ml d'urine 1 µg/ml de plasma	Alimentation naturelle Vecteur permettant une meilleure action de certaines substances anti-inflammatoires et possédant lui-même de légères propriétés anti-inflammatoires.
Théobromine	2 µg/ml d'urine	Alimentation industrielle Métabolite de la caféine à propriétés stimulantes.
Acide salicylique	750 µg/ml d'urine 6,5 µg/ml de plasma	Alimentation naturelle Propriétés antalgiques.

Il est précisé que de tels seuils peuvent être fixés pour des substances provenant d'aliments normaux, c'est à dire de plantes traditionnellement broutées ou récoltées, ainsi que pour des substances trouvées en très faible quantité dans les aliments semi-manufacturés et qui proviennent de contamination en cours de fabrication ou de transport ou apportées comme facteurs d'appétence. Ceci est le cas de la théobromine, en particulier.

### **3.3. Le prélèvement biologique et son analyse**

L'article 200 du code des courses précise les conditions dans lesquelles doivent être effectués ces prélèvements ainsi que leur analyse.

#### **3.3.1.les prélèvements biologiques**

Ils peuvent être faits à n'importe quel moment, que ce soit à l'entraînement, avant ou après une course.

En principe, ce sont les chevaux vainqueurs qui seront contrôlés. Cependant, les contrôles inopinés, sur le lieu même d'entraînement ne sont pas à exclure.

Les opérations de prélèvement sont réalisées sous la responsabilité d'un vétérinaire agréé par la Fédération Nationale des Courses Françaises, à la demande des commissaires de course.

L'entraîneur ou un de ses représentants doit être présent pendant le prélèvement afin de s'assurer de sa régularité.

Quelle est la nature des prélèvements ?

Il est notamment procédé à des prélèvements d'urine ou de sang, dans le cas où le cheval ne fournirait pas suffisamment d'urine.

En effet, le vétérinaire doit recueillir suffisamment d'urine pour partager le volume en deux parties d'environ 60ml chacune (une pour l'expertise et l'autre pour la contre-expertise s'il y a lieu).

Dans certains cas, il est également possible de prélever de la sueur, de la salive, ou encore des crins. Cependant, ces milieux biologiques ne permettent pas un contrôle aussi efficace que l'urine, plus riche.

Le vétérinaire doit ensuite conditionner les deux prélèvements dans le flaconnage prévu à cet effet, les identifier individuellement à l'aide d'un code, puis les mettre sous scellés. L'anonymat et l'inviolabilité doivent être garantis.

A l'issue du prélèvement, il est établi un procès-verbal qui sera signé par le vétérinaire et l'entraîneur ou son représentant.

Les prélèvements sont acheminés dans les meilleurs délais au laboratoire de la Fédération Nationale des Courses Françaises.

### **3.3.2.L'analyse des prélèvements**

Elle est effectuée au L.A.B de Châtenay-Malabry qui est le laboratoire de la FNCF. Seule la première partie du prélèvement, encore appelée flacon « A », est analysée.

La deuxième partie ou flacon « B » ne sera utilisée que si la première analyse s'est révélée positive. Dans ce cas, la contre-expertise devra être réalisée dans un autre laboratoire choisi parmi les laboratoires agréés figurant sur une liste publiée au Bulletin Officiel des courses.

Dès que la seconde analyse débute, l'anonymat est levé et l'entraîneur du cheval concerné sera alors informé du résultat de l'analyse de la première partie du prélèvement.

Si ce laboratoire confirme la présence de substances prohibées, il adresse un rapport d'analyse à la FNCF qui le transmet ensuite aux commissaires de course avec le premier rapport d'analyse et le procès verbal établi au préalable.

## **3.4. Les sanctions des prélèvements positifs**

Elles sont mentionnées au niveau de l'article 201 du code des courses.

### **3.4.1.Sanctions applicables au cheval**

Si l'analyse du prélèvement biologique révèle la présence d'une substance prohibée, une enquête est ouverte par les commissaires.

Ceux-ci peuvent interdire à l'entraîneur de faire courir le cheval avant la fin de l'enquête et pour une durée déterminée ( 1 an minimum en cas d'utilisation de stéroïde anabolisant, facteur de croissance, substance agissant sur l'érythropoïèse, transporteur d'oxygène synthétique).

Lorsque l'infraction est justifiée, les commissaires doivent, s'il a couru, distancer le cheval de la course à l'occasion de laquelle a été effectué le prélèvement.

### **3.4.2. Sanctions applicables à l'entraîneur**

Les commissaires peuvent infliger, à l'entraîneur du cheval contrôlé positif, une amende pouvant atteindre 15 000 euros.

Ils peuvent, en outre, suspendre ou retirer son autorisation d'entraîner.

## **4. MESURES PREVENTIVES**

### **4.1. Les données essentielles**

La réglementation concernant le dopage des chevaux de course est très restrictive et permet ainsi de limiter les tentatives de fraude.

En effet, un cheval participant à une course doit se trouver au mieux de sa forme. Si son état de santé nécessite l'usage de substances médicamenteuses, il est considéré comme inapte à courir.

Néanmoins, un entraîneur est responsable de la bonne santé des chevaux qui lui ont été confiés. Il se doit d'apporter tous les soins nécessaires à un cheval malade.

Des règles précises ont été établies en ce qui concerne l'utilisation des médicaments pour soigner les chevaux à l'entraînement dans une écurie de course.

La prévention n'est pas synonyme d'interdiction absolue mais il est indispensable de s'entourer de certaines précautions. Il est important de connaître les produits autorisés ainsi que les principes de médication.

### **4.2. La médication**

#### **4.2.1. Principes à respecter**

Pour un cheval déclaré à l'entraînement, l'entraîneur doit pouvoir justifier, à l'aide d'une ordonnance, l'utilisation de certaines substances interdites.

Cette prescription doit comporter :

- le nom du cheval ou son numéro SIRE ;
- le nom du médicament ;
- la posologie et la durée du traitement ;
- les précautions à prendre avant de faire recourir le cheval.

Ces ordonnances doivent être numérotées chronologiquement au fur et à mesure des traitements prescrits et conservées dans un classeur pendant au moins un an. De plus, les vétérinaires doivent renseigner les entraîneurs sur les délais à respecter avant la participation du cheval à une course. Cependant, les temps de détection présentent des limites : ils ne sont pas totalement fiables et sont donnés à titre indicatif.

En cas de doute sur l'élimination d'une substance prohibée, il est conseillé de procéder à une analyse dite «de courtoisie » . Il suffit de contacter le Service de Biologie Equine de la FNCF afin d'obtenir un modèle de demande d'analyse.

Les prélèvements de sang ou d'urine du cheval, ainsi que la demande dûment remplie et les ordonnances, devront être adressés au L.A.B à Châtenay-Malabry.

En cas de doute sur la présence éventuelle de contaminants alimentaires, le principe est le même, mais l'ordonnance sera remplacée par l'étiquette des aliments.

Un résultat négatif d'analyse de dépistage ne préjuge en rien de l'application du Code des Courses en ce qui concerne les analyses post-courses et les conséquences d'un résultat positif de telles analyses.

#### **4.2.2. Les substances autorisées**

Il existe quelques produits qui ne contiennent pas de substances entrant dans l'une des catégories de substances prohibées.

Il s'agit notamment de substances antiseptiques, anti-parasitaires et de vaccins.

#### 4.2.2.1. Les antiseptiques

Ce sont des produits très couramment utilisés pour les « premiers soins », et très utiles pour soigner toute sorte de plaie . Les plus connus sont présentés ci-après.

Principes actifs	Exemple de spécialités
Benzoxonium (chlorure)	ASBONAL*
chlorhexidine	ACTIBOMBE*
Aluminium	ALUSPRAY*
Eosine disodique	EOSINE AQUEUSE GIFRER*
Polyvidone iodé	VETEDINE*
Chlorure de benzalkonium	VETOTRIX*
Hypochlorite de soude	SOLUTION DE DAKIN*
Mercurobutol, sulfate de lauryle et de sodium	MERCRYL LAURYLE*

#### 4.2.2.2. Les anti-parasitaires internes et externes

Les produits autorisés ne doivent contenir que des substances à activité strictement anti-parasitaire (cf tableau suivant).

Indication	Principes actifs	Exemple de spécialités
<b>Anti-parasitaires externes</b>	Fenvalerate (pyréthrinoïdes)	ACADREX 60*
	lindane	VETICIDE*
	perméthrine	STOMOXINE ANIMAL*
<b>Anti-parasitaires internes</b>	pyrantel	STRONGID*
	oxybendazole	EQUIMINTHE*
	ivermectine	EQUVALAN*
	febentel	RINTAL*
	mébendazole	TELMIN*
	Citrate de pipérazine	VETOPERAZINE*

#### 4.2.2.3. *les vaccins agréés*

Les vaccins concernés sont des vaccins bénéficiant d'une autorisation de mise sur le marché pour le cheval en France.

Il s'agit de vaccins obligatoires parmi lesquels on retrouve les spécialités suivantes :

Exemples de spécialités	Maladies concernées
RABISIN*	rage
PNEUMEQUINE*	rhinopneumonie
GRIPIFFA*, EQUIGRIP*	grippe équine
EQUIFFA*	grippe équine + rhinopneumonie
TETAGRIPIFFA*	grippe équine + tétanos
TETAPUR*	tétanos

Les vaccins ne peuvent être délivrés que sur présentation d'une ordonnance.

Le vétérinaire doit mettre à jour le livret signalétique du cheval à chaque nouvelle vaccination.

## **5. CONCLUSION**

La lutte contre le dopage s'intensifie chaque jour dans le monde des courses hippiques comme dans de nombreux sports.

L'objectif des contrôles antidopage est de veiller à la régularité des courses d'une part, et de protéger la santé de l'animal d'autre part.

De nombreuses restrictions sont imposées par la réglementation et il faut connaître et respecter certains principes de médication.

Malgré toutes les précautions prises par les professionnels par rapport à l'usage des médicaments, ils peuvent être confrontés à des accusations de dopage. Les substances détectées sont parfois des substances pouvant provenir de l'alimentation. Les problèmes de positivité causés par ces contaminants alimentaires au niveau du contrôle antidopage sont connus depuis longtemps mais il est intéressant d'étudier certaines molécules fréquemment mises en cause.

**DEUXIEME PARTIE :**  
**LES CONTAMINANTS**  
**ALIMENTAIRES**

# **LES CONTAMINANTS ALIMENTAIRES**

## **1. INTRODUCTION**

Les contrôles antidopage chez le cheval pourraient être comparés à ceux pratiqués chez les sportifs, pourtant, il existe une différence caractéristique.

Dans les deux cas, de nombreuses molécules peuvent être détectées.

Il peut être question de dopants majeurs ( anabolisants, hormones de croissance) ou encore de molécules thérapeutiques ( A.I.S et A.I.N.S, antalgiques, anesthésiques locaux ).

Mais en ce qui concerne les chevaux, on distingue une catégorie particulière, celle des contaminants de l'alimentation.

Ces substances polluantes provenant de la nourriture quotidienne du cheval posent un problème singulier. En effet, elles provoquent la positivité des prélèvements effectués lors des contrôles, à l'insu de l'entraîneur (2).

L'étude des molécules les plus fréquemment rencontrées permet de mieux comprendre leur rôle par rapport au contrôle antidopage.

## **2. L'ALIMENTATION DU CHEVAL**

### **2.1. généralités**

Le cheval est un herbivore monogastrique.

L'herbe constitue l'aliment naturel du cheval mais il n'est pas suffisant notamment pour un cheval qui doit fournir des efforts physiques quotidiennement.

Un cheval de course à l'entraînement doit recevoir une nourriture appropriée et qui permet de couvrir correctement ses besoins énergétiques.

Les rations sont distribuées en trois repas principaux par jour et il faut adapter leur contenu en fonction de l'activité de l'animal (4).

## **2.2. les aliments traditionnels**

### **2.2.1. les fourrages**

Ils sont essentiellement constitués par le foin et la paille.

Pour obtenir le foin, il suffit de faucher une prairie. Sa composition varie donc en fonction des herbes qui poussent sur cette prairie. On note en général, une prédominance de graminées (poacées), mais on ne peut pas connaître la constitution exacte du foin récolté.

Cependant, il existe des prairies artificielles qui sont ensemencées de façon à obtenir un mélange de plantes calculé, ou encore pour recueillir une espèce unique comme la luzerne par exemple(5).

Le foin est un aliment fondamental pour le cheval car il lui apporte non seulement des éléments nutritifs, mais il sert aussi de lest car ses fibres cellulosiques sont facilement digestibles (6).

La paille, au contraire, est peu digestible et ralentit le transit intestinal (6). Les pailles les plus utilisées sont celles d'avoine et de blé. Bien qu'elles représentent un certain volume alimentaire, elles composent avant tout la litière de l'animal (5).

Les fourrages constituent la base de la ration alimentaire mais toutefois, un cheval en activité doit obligatoirement consommer des aliments concentrés en énergie en complément du foin et de la paille (6).

### **2.2.2.les grains**

#### **2.2.2.1. l'avoine**

C'est le grain le mieux équilibré, il est énergétique mais avant tout excitant.

Il peut être donné entier ou aplati pour permettre une meilleure digestibilité (5).

L'avoine convient très bien à l'alimentation du cheval de course compte tenu de ces propriétés excitantes (6).

### **2.2.2.2. les autres grains**

De nombreuses graines de céréales peuvent être employées :

- l'orge occupe le second rang après l'avoine parmi les grains distribués aux chevaux. Elle est plutôt utilisée pour nourrir un cheval au repos.
- le maïs est le grain le plus énergétique et sert à remettre un cheval en état.
- le blé, le seigle ou le son représentent une utilisation secondaire (5).

## **2.3. les aliments industriels**

Les aliments industriels sont plus couramment appelés granulés.

Il en existe différentes sortes, distribués par diverses marques et leur composition est très variée. Certains sont « complets » et d'autres « complémentaires ».

En général, ils sont fabriqués à base de :

- grains de céréales ;
- fourrages déshydratés ;
- produits et sous produits de graines oléagineuses ;
- produits et sous produits de la fabrication du sucre.

Sont additionnés à ces différents éléments :

- des vitamines (A, D, E) ;
- des minéraux (cuivre, calcium, phosphore).

L'utilisation de ces aliments industriels garantit une alimentation riche en protéines, glucides, matières grasses et cellulosiques, vitamines et minéraux (6).

Leur apport nutritionnel peut donc être suffisant mais ils sont surtout employés en complément de l'alimentation traditionnelle, mélangés à l'avoine par exemple (4).

### 3. ETUDE DES CONTAMINANTS ALIMENTAIRES

De nombreux contrôles antidopage effectués sur les chevaux de course ont révélé la présence de substances pouvant provenir de la contamination des aliments (2).

Les molécules retrouvées sont principalement des alcaloïdes tels que l'atropine, la scopolamine, la caféine ou la théobromine.

Il est important de bien connaître les caractéristiques chimiques et pharmacologiques des contaminants alimentaires ainsi que leur origine afin de mieux cerner leur rôle par rapport au dopage chez le cheval.

#### 3.1. les molécules mises en cause

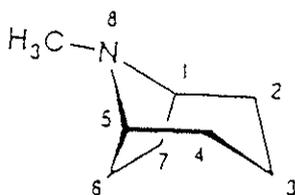
Cette étude porte sur les molécules qui ont été testées au cours de l'expérimentation et qui sont fréquemment responsables de la positivité des prélèvements réalisés lors des contrôles antidopage.

Elle concerne quatre alcaloïdes dont deux sont tropaniques et deux puriques.

##### 3.1.1. alcaloïdes tropaniques :

##### ATROPINE et SCOPOLAMINE

L'atropine et la scopolamine sont des alcaloïdes vrais à noyau tropane.



noyau tropane

### 3.1.1.1. L'atropine

#### ✓ Structure chimique

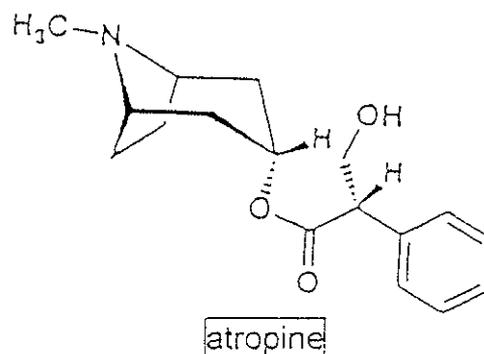
L'atropine est l'ester racémique de l'acide tropique et du tropanol.

Sa structure est très proche de celle de l'hyoscyamine qui correspond à l'atropine lévogyre (7).

On distingue 2 réactions d'estérification :

- tropanol + acide DL tropique → atropine (atropine racémique)

- tropanol + acide L tropique → hyoscyamine (atropine lévogyre)



#### ✓ Caractéristiques chimiques

L'atropine est une base faible utilisée sous forme de sulfate.

Le sulfate d'atropine est une poudre cristalline blanche, inodore, très soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool, pratiquement insoluble dans le chloroforme et dans l'éther (8).

#### ✓ Action pharmacologique

L'atropine est une substance parasympholytique qui inhibe la fixation de l'acétylcholine sur les récepteurs muscariniques au niveau des organes recevant une innervation parasympholytique. Cette inhibition est compétitive et réversible.

Cet antagonisme entraîne des effets sympathomimétiques au niveau des organes concernés (7).

- au niveau cardiaque : elle induit temporairement une bradycardie puis élève le rythme cardiaque par suppression de l'action frénatrice du vague ;
- au niveau vasculaire : on observe une légère vasoconstriction avec une hypertension modérée ;
- au niveau des fibres musculaires lisses : l'atropine induit le relâchement des fibres lisses. On observe :
  - une diminution du tonus et du péristaltisme intestinal ;
  - une paralysie des uretères et une diminution de l'excrétion de l'urine ;
  - une opposition à l'action bronchoconstrictrice de l'acétylcholine.
- Au niveau des différentes sécrétions : elle freine les sécrétions salivaire, sudorale, gastrique, pancréatique, bronchique et lacrymale ;
- Au niveau oculaire : l'atropine induit une mydriase passive, une difficulté d'accommodation et une augmentation de la pression intra-oculaire .

De plus, l'atropine a une action au niveau central. Administrée à forte dose, elle provoque une excitation importante alors qu'à dose faible elle a une action sédatrice plus ou moins marquée (9).

Cependant, il faut noter que l'atropine agit différemment selon les espèces. Le cheval est moins sensible que l'homme (10).

### ✓ **Indications et emplois**

- **antispasmodique**

Chez le cheval, les coliques intestinales sont une des pathologies les plus fréquemment rencontrées. L'atropine est utilisée en thérapeutique pour son effet

inhibiteur sur les muscles lisses dont la contracture provoque les spasmes intestinaux responsables de ces coliques.

Exemple de spécialité ⇒ ATROPINE 0,1% AGUETTANT \* : la posologie est de 0,05 ml de soluté injectable de sulfate d'atropine à 0,1% par kg pour les équins adultes (11) soit environ 25 mg d'atropine.

D'autre part, l'atropine est employée comme antispasmodique bronchique en association à des substances antitussives et fluidifiantes. Elle est indiquée dans le traitement des affections bronchiques aiguës et chroniques, en particulier l'emphysème pulmonaire.

Exemple de spécialité ⇒ EKUPULMIL \* : la posologie est de 60 g en deux prises quotidiennes soit 66 mg d'atropine (11).

- **Autres indications**

- en anesthésie : l'atropine est indiquée pour prévenir les syncopes cardiaques et diminuer les sécrétions salivaires et bronchiques ;

- en ophtalmologie : elle est utilisée en tant que mydriatique pour faciliter l'examen de l'œil et pour calmer les douleurs et diminuer les sécrétions dans les affections du globe oculaire. (10,11)

Exemple de spécialité ⇒ VT doses atropine 1% \*: la posologie est de 2 à 5 gouttes de collyre selon la taille de l'animal.

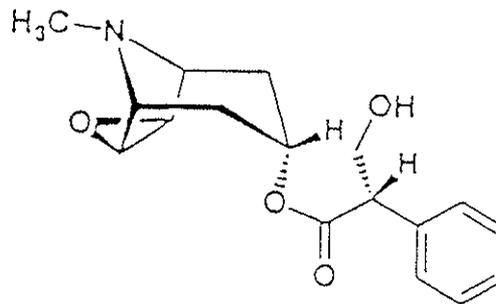
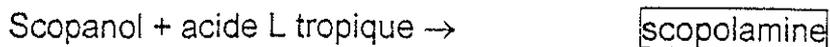
### **3.1.1.2. la scopolamine**

- ✓ **Structure chimique**

La scopolamine est aussi un alcaloïde dérivé du tropanol.

Elle est aussi appelée hyoscine car on croyait autrefois que la scopolamine était l'isomère de l'hyoscyamine (8).

Elle est issue de la réaction d'estérification suivante :



#### ✓ *Caractéristiques chimiques*

La scopolamine est une base faible qui se présente sous forme de cristaux incolores ou blancs, peu solubles dans l'eau, mais très solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme ou les acides dilués (8).

Le sel habituellement employé est le bromhydrate, très soluble dans l'eau (10).

#### ✓ *Action pharmacologique*

Comme l'atropine, cet alcaloïde a des propriétés parasympatholytiques périphériques. Cependant, son action sur le cœur est beaucoup moins marquée et son activité mydriatique est plus rapide, intense, mais moins durable que celle de l'atropine (10).

Par contre, ses effets sur le système nerveux central sont nets. La scopolamine déprime en particulier les aires motrices et elle est sédative, ce qui l'oppose à l'effet excitant de l'atropine (9).

Utilisée sous forme de bromobutylate, son action parasympatholytique s'exerce en particulier sur l'intestin et les voies urinaires ou encore sur les voies génitales (10). Ceci explique l'absence des effets secondaires de l'atropine sur l'activité des glandes salivaires et sudorales et sur la fonction cardio-respiratoire (11).

### ✓ *Indications et emplois*

Aujourd'hui, la scopolamine n'est plus utilisée en médecine vétérinaire.

Chez le cheval, la scopolamine n'était utilisée qu'en tant que spasmolytique intestinal. En effet, les dérivés synthétiques n'ont pas d'effets centraux.

Elle était donc indiquée dans le traitement des coliques ; la spécialité la plus employée était le bromure de N-butylhyoscine : le BUSCOPAN\*.

A côté de cette spécialité humaine, il existait sur le marché des médicaments vétérinaires d'autres spécialités comme ENTEROGEL\* (voie orale) ou ESTOCELAN\* (voie IV lente) dans lesquelles la scopolamine agissait en tant qu'antispasmodique.

La dose active de scopolamine pour la voie orale est de 500 mg matin et soir ; et de 80 à 120 mg pour la voie intraveineuse.

Le bromure de N-butyl scopolamine est associé dans le premier cas à des antibiotiques, ou dans le second cas à un analgésique (11).

Ces médicaments ont été retirés du marché pour des raisons économiques essentiellement.

#### **3.1.1.3. propriétés dopantes**

L'atropine et la scopolamine sont considérées comme des molécules dopantes car elles intègrent au moins l'une des catégories de substances interdites par le code des courses.

Ces molécules ne paraissent pas être des dopants majeurs, mais elles rentrent dans les catégories de substances agissant sur :

- le système digestif
- le système cardio-vasculaire
- le système respiratoire
- le système nerveux

Quels bénéfices peut rechercher un entraîneur en utilisant de telles molécules ?

Il peut employer des médicaments à base d'atropine pour soigner un cheval qui souffre de coliques ou de troubles respiratoires. Si ce cheval participe à une

course dans des délais moindres, il pourra être contrôlé positif. L'acte de dopage repose plus sur le fait qu'il ne respecte pas le temps de repos accordé à ce cheval malade, que sur les bénéfices apportés par la substance elle-même.

Par contre l'administration de tels médicaments à un cheval sain va permettre à l'animal d'améliorer ces performances notamment par leur action sur le système respiratoire.

### 3.1.2.alcaloïdes puriques :

#### CAFEINE et THEOBROMINE

La caféine et la théobromine sont des bases puriques : elles sont composées d'un noyau purine qui résulte de l'association d'un noyau pyrimidine et d'un noyau imidazole.

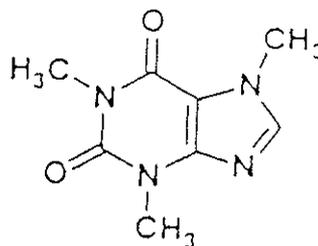
Les bases puriques sont des alcaloïdes atypiques de part leur propriétés chimiques particulières mais elles font néanmoins partie de la classe des alcaloïdes (7).

##### 3.1.2.1. la caféine

###### ✓ *structure chimique*

La caféine est un dérivé xanthique. Elle est aussi appelée 1,3,7-triméthylxanthine ou encore méthylthéobromine (8).

Sa formule est la suivante :



caféine

### ✓ *caractéristiques chimiques*

La caféine se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche de saveur amère. Elle est assez soluble dans l'eau, facilement soluble dans le chloroforme et l'eau bouillante (8).

C'est une base faible à caractère amphotère (10).

### ✓ *action pharmacologique*

Les bases xanthiques inhibent l'activité des phosphodiesterases et engendrent ainsi l'augmentation du taux d'AMPc (3'5' Adénosine monophosphate cyclique). Ainsi, la caféine a un effet antagoniste sur les récepteurs membranaires de l'adénosine, nucléotide neuromodulateur du système nerveux central (12).

La caféine agit principalement au niveau du système nerveux central et des systèmes cardio-vasculaire et respiratoire (7).

- Au niveau cortical : la caféine stimule le cortex cérébral ; c'est un psychostimulant puissant agissant notamment sur l'état d'éveil. De plus, elle permet de diminuer la sensation de fatigue.
- Au niveau bulbaire : elle a une action sur les centres bulbaires vagal, vasomoteur et respiratoires. Ceci se traduit par des propriétés analeptiques cardio-respiratoires.

La caféine provoque :

- Une augmentation du rythme et du débit cardiaque par action chronotrope et inotrope positive et une légère vasodilatation périphérique;
- un effet diurétique par action sur le glomérule rénal ;
- un relâchement des fibres musculaires lisses, en particulier au niveau des bronches.

### ✓ *indications et emplois*

La caféine entre dans la formulation de nombreuses spécialités notamment en associations avec des substances antalgiques comme l'aspirine, le paracétamol et la codéine par exemple (7).

Actuellement, sur le marché, il n'y a plus de médicaments contenant de la caféine en tant que principe actif à part entière.

Parmi les spécialités les plus employées, on distinguait :

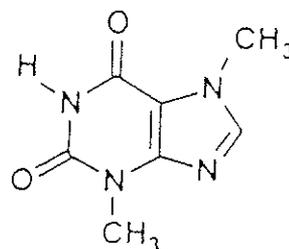
- la spécialité CAFEINE AGUETTANT\* soluté injectable à 25 % indiquée comme stimulant de l'activité nerveuse et dans le traitement des défaillances cardiaques et respiratoires (9).

### 3.1.2.2. *la théobromine*

#### ✓ *structure chimique*

La théobromine est aussi un dérivé xanthique. Elle est encore nommée 3,7-diméthylxanthine (8).

Sa formule est la suivante :



théobromine

#### ✓ *caractéristiques chimiques*

Elle se présente sous forme de cristaux anhydres blancs, amers, presque insolubles dans l'eau, le benzène, mais soluble dans le chloroforme bouillant et l'eau de chaux (8).

Tout comme la caféine, c'est une base faible à caractère amphotère (10).

### ✓ *action pharmacologique*

La théobromine est un métabolite de la caféine (obtenu par déméthylation). Ses effets sont analogues à ceux de la caféine ; elle stimule le cortex cérébral et les centres bulbaire, vasomoteur et cardio-respiratoire (9). Cependant, son action sur la diurèse est nettement plus marquée. Sa puissante action diurétique est due à l'irritation qu'elle provoque sur les épithéliums rénaux (8).

### ✓ *emplois*

Il n'existe plus de spécialités à base de théobromine mais son emploi est possible sous forme de poudre associée à du lactose.

Administrée par voie orale, elle est utilisée en tant que diurétique afin de traiter l'insuffisance rénale (surtout chez le chien) (10).

### **3.1.2.3. propriétés dopantes**

Les bases xanthiques possèdent des propriétés dopantes. En effet, ces substances font partie de la liste des substances prohibées par leur action sur les systèmes nerveux, cardio-vasculaire, respiratoire et urinaire.

La caféine en particulier, est fréquemment employée pour ses propriétés stimulantes du système nerveux central. C'est un excitant puissant qui permet incontestablement d'améliorer les performances des chevaux de courses.

La théobromine par contre n'apparaît pas comme un dopant majeur : ses effets sur le système nerveux central sont peu marqués, mais elle est intéressante en tant que métabolite car elle peut être le reflet d'une administration de caféine (13).

## **3.2. origine de la contamination alimentaire**

### **3.2.1. quels aliments suspectés ?**

Les chevaux étant des herbivores, il est évident que les molécules responsables de la positivité des prélèvements ont une origine végétale.

Les chevaux peuvent donc absorber ces polluants directement en mangeant des fourrages composés de plantes séchées non sélectionnées ; ou bien par l'intermédiaire des aliments industriels.

En effet, ces aliments semi-manufacturés représentent la première source de contamination si l'on se réfère aux enquêtes menées a posteriori en cas de prélèvement positif (1,2).

Ils sont suspectés en priorité car la présence de contaminants peut non seulement provenir des matières premières en elles-même, mais aussi d'un mauvais nettoyage de la chaîne de fabrication.

Dans tous les cas, il est nécessaire de procéder à des analyses de l'alimentation pour déterminer la cause de contamination. Un exemple sera développé dans la troisième partie concernant l'expérimentation réalisée en collaboration avec le C.N.E.F(Club de Nutrition Equine Français).

### **3.2.2. quelles plantes ?**

Il existe de nombreuses plantes contenant les alcaloïdes mis en cause :

- l'atropine et la scopolamine sont notamment présentes dans les plantes de la famille des solanacées ;

- la caféine et la théobromine quant à elles, proviennent essentiellement de plantes appartenant à différentes familles telles que les sterculiacées, les rubiacées ou encore les théacées.

#### **3.2.2.1. plantes contenant de l'atropine et de la scopolamine**

##### **➤ famille des solanacées**

En France, cette famille est représentée par 3 principales espèces :

- *Atropa belladonna* , **la belladone**
- *Datura stramonium*, **le datura officinal ou stramoine**
- *Hyocyamus niger*, **la jusquiame noire**

Ces trois espèces sont des plantes herbacées à feuilles alternes, simples, non stipulées.

La belladone est une plante à tige dressée (1 à 1.5 m) qui croît dans les clairières et les décombres, de préférence en terrain calcaire.

Le datura est une espèce abondante en Europe de 0.8 à 1.2 m de hauteur qui affectionne les terrains incultes et les bords des chemins.

La jusquiame noire est elle aussi assez abondante en Europe. Elle pousse sur des sols sablonneux : terrains vagues, talus et décombres.

Les fleurs pentamères ont un calice gamosépale persistant, des étamines insérées sur le tube de la corolle, un gynécée à deux carpelles.

Les fruits varient selon l'espèce :

- le fruit de la belladone est une baie noire ;
- celui du datura est une capsule tétraloculaire à déhiscence multiple ;
- celui de la jusquiame est une capsule biloculaire s'ouvrant par un couvercle (une pyxide).

Tous les organes de ces solanacées indigènes renferment des alcaloïdes (7).

✓ *Teneur en alcaloïdes tropaniques :*

plante	Teneur en alcaloïdes	Atropine / hyoscyamine	Scopolamine
belladone	0,3 à 0,6 %	90 à 95 %	2 %
datura	0,2 à 0,5 %	65 %	35 %
jusquiame	0,04 à 0,15 %	75 %	25 %

La présence des alcaloïdes confère à ces solanacées leur toxicité. En effet, ces plantes font partie des espèces toxiques car elles peuvent occasionner des symptômes nerveux aux chevaux qui en mangeraient. Il faut noter que les intoxications végétales sont rares chez le cheval qui évite de consommer les végétaux toxiques pour lui (5).

Cependant, il est possible de retrouver ces plantes dans des fourrages de qualité moindre. Le cheval nourri avec de tels fourrages pourrait alors être positif lors d'un contrôle antidopage. Dans ce cas, la pollution alimentaire est dite naturelle.

### 3.2.2.2. *plantes contenant des bases puriques*

#### ➤ **famille des rubiacées**

*Coffea sp*, **les caféiers** sont de petits arbres originaires des zones montagneuses du sud-ouest de l'Éthiopie puis acclimatés dans différentes contrées chaudes du globe comme les Antilles et le Brésil principalement.

Ces arbrisseaux présentent des feuilles entières, persistantes et luisantes. Les fleurs sont blanches et odorantes, regroupées en verticilles à l'aisselle des feuilles. Le fruit est une drupe verte, devenant rouge à maturité et renfermant deux graines. Celles-ci sont plus connues sous le nom de « café ». Ce café « en grain » est obtenu à partir du café « en cerise » qui devra être dépulvérisé puis débarrassé de son endocarpe (dépulpage puis déparchage).

Le grain de café contient environ 2% de caféine mais la teneur peut varier selon les espèces (7).

#### ➤ **Famille des théacées**

*Camellia sinensis*, **le théier** est un arbrisseau originaire des forêts asiatiques pluvieuses. Il est actuellement cultivé en Inde et en Chine par exemple mais aussi sur le continent africain.

La caféine est présente dans les feuilles du théier qui sont des feuilles persistantes, molles et duveteuses lorsqu'elles sont jeunes et presque glabres lorsqu'elles sont âgées (7).

#### ➤ **Famille des sterculiacées**

Deux espèces de cette famille sont à retenir :

- *Theobroma cacao*, **le cacaoyer**

Petit arbre des forêts d'Amérique centrale tropicale et des forêts équatoriales d'Amérique du sud, il est aujourd'hui cultivé, principalement en Afrique de l'ouest et en Amérique du sud.

Le cacaoyer est caractérisé par l'insertion directe de ses fleurs sur le tronc et les branches.

Le fruit est appelé cabosse : c'est un fruit très volumineux, fusiforme, à paroi coriace de couleur jaune à rouge. Il renferme vingt à quarante graines, les fèves, recouvertes d'une pulpe blanche. Ces fèves, à l'état frais sont inodores, très amères et devront être travaillées afin d'obtenir une certaine valeur gustative et permettre la fabrication du chocolat. Elles contiennent majoritairement de la théobromine mais aussi de la caféine.

Cependant, la théobromine existe aussi dans les coques de la graine dénommées cosses de cacao (7).

- *Cola sp.*, **les kolatiers**

Les kolatiers sont des arbres de moyenne grandeur croissant dans les zones équatoriales de l'Afrique de l'ouest.

Le fruit se compose de follicules ouverts, regroupés en étoile, et qui contiennent cinq à dix graines chacun. Les graines recouvertes d'un tégument pulpeux, aussi appelées noix de cola, renferment principalement de la caféine (7).

- **autres plantes**

- *Ilex paraguariensis*, **le maté**

Le maté est un arbre de la famille des Aquifoliacées, originaire d'Amérique du sud, et dont les feuilles contiennent de la caféine (7).

- *Paullinia cupana*, **le guarana**

Cette plante grimpante est cultivée en Amazonie. Elle porte de petits fruits de couleur rouge vif dont les graines sont utilisées pour leurs propriétés tonifiantes dues à la présence de caféine (7).

✓ *Teneur en alcaloïdes puriques*

<b>Plantes</b>	<b>Teneur en caféine</b>	<b>Teneur en théobromine</b>
<b>Caféier</b>	0,6 à 3 %	
<b>Théier</b>	2 à 4 %	
<b>Cacaoyer</b>	0,05 à 0,3 %	1 à 3 %
<b>Kolatier</b>	environ 2,5 %	traces

Les végétaux cités ci-dessus ne sont pas des végétaux indigènes et ne peuvent pas entrer dans la composition de fourrages étant donné que ce sont des arbustes. Ils ne représentent donc pas une source de contamination alimentaire naturelle (1).

Les aliments contaminés par les bases xanthiques ne peuvent être que des aliments élaborés par l'industrie.

Parmi ces plantes, seul le cacaoyer peut être directement désigné comme polluant alimentaire. En effet, dès 1915, pendant la première guerre mondiale, les cosses de cacao ont été employées pour remplacer une partie de l'avoine dans l'alimentation des chevaux (8). Non seulement, elles constituent un apport calorique intéressant mais elles permettent aussi d'améliorer le goût des aliments. Aujourd'hui, l'industrie utilise les cosses de cacao comme facteur d'appétence et des aliments en contenant ont déjà été mis en cause dans des cas de contrôles positifs à la caféine.

## **4. CONCLUSION**

Le risque de pollution des fourrages ou des aliments industriels est bien réel, tout comme le risque de retrouver par la suite des molécules dopantes au niveau des prélèvements urinaires.

Les substances choisies pour notre étude ne devraient pas occasionner d'offense majeure pour les chevaux, si elles sont administrées à faible dose. C'est pourquoi, l'idée de déterminer les doses journalières tolérables pour ces molécules, va permettre de prendre en compte le fait que la qualité et l'innocuité des aliments est difficilement maîtrisable.

**TROISIEME PARTIE :**  
**ETUDE EXPERIMENTALE**

# **ETUDE EXPERIMENTALE**

## **1. INTRODUCTION**

Constatant une augmentation des cas positifs relatifs à une contamination de la nourriture des chevaux contrôlés, une étude pilote est mise en place par le laboratoire de la Fédération Nationale des Courses Françaises ( L.A.B ).

L'objectif de cette étude consacrée aux contaminants alimentaires est de déterminer les concentrations urinaires de certaines molécules, en fonction des doses administrées dans l'alimentation du cheval.

Ces doses calculées par rapport aux données expérimentales fournies par la littérature.

Au cours de cette expérimentation, quatre molécules seront testées. Il s'agit des alcaloïdes étudiés dans la deuxième partie : l'atropine, la scopolamine, la caféine et la théobromine.

Des échantillons urinaires seront recueillis puis analysés au L.A.B à Châtenay-Malabry. Dans ce laboratoire, sont réalisés tous les contrôles antidopage concernant les courses de chevaux en France. Les méthodes d'analyse utilisées lors de l'expérimentation seront identiques à celles employées pour le contrôle antidopage chez le cheval. C'est pourquoi, il faudra s'intéresser de près aux aspects techniques et analytiques de ces méthodes.

## **2. PRESENTATION DE L'ETUDE PILOTE**

Cette étude consacrée aux contaminants alimentaires est bien une étude pilote car personne n'avait entrepris aucun travail expérimental jusqu'alors.

Malgré tous les désagréments causés par ces dopants spécifiques à l'espèce équine, il n'y a que très peu de données et de publications concernant le rôle de ces contaminants alimentaires. Cette expérimentation pionnière suit néanmoins un protocole expérimental précis afin d'opérer de façon cohérente.

## **2.1. objectifs**

Le principal objectif de cette expérimentation est de ne plus retrouver dans les urines, de substances ayant une activité pharmacologique dopante mais pouvant être d'origine alimentaire.

En effet, comme nous l'avons vu précédemment, la contamination des aliments peut avoir des sources diverses et seuls des contrôles de qualité très stricts pourraient certifier que la nourriture n'est pas polluée.

Il est donc nécessaire d'aborder le problème autrement, en déterminant les doses journalières tolérables (DJT) pour l'**atropine**, la **scopolamine**, la **caféine** et la **théobromine** afin d'éliminer le risque de positivité lors des contrôles antidopage.

## **2.2. protocole expérimental**

### **2.2.1. mise en place de l'expérimentation**

L'expérimentation animale s'est déroulée au Haras National de Pompadour et plus précisément aux écuries du Château.

Les tests ont été réalisés sur huit chevaux de sexe et d'âge indifférents.

### **2.2.2. nourriture et supplémentation**

#### **2.2.2.1. *nourriture***

Les chevaux utilisés pour l'expérimentation doivent être nourris à l'aide d'aliments testés négativement par le laboratoire avec les méthodes de screening habituelles.

Cette nourriture ne comportant aucune trace de l'une des quatre molécules, est donnée aux chevaux au moins trois jours avant le début de l'expérimentation.

### **2.2.2.2. supplémentation**

L'atropine, la scopolamine, la caféine et la théobromine sont administrées aux chevaux sous forme de gélules mélangées à l'alimentation.

Pour chaque molécule, on distingue une dose forte et une dose faible.

Le protocole d'administration est présenté dans le tableau suivant :

<b>CHEVAUX</b>	<b>MOLECULE ET DOSAGE</b>
<b>Cheval 1</b>	<b>Caféine faible</b>
<b>Cheval 2</b>	<b>Caféine forte</b>
<b>Cheval 3</b>	<b>Théobromine faible</b>
<b>Cheval 4</b>	<b>Théobromine forte</b>
<b>Cheval 5</b>	<b>Scopolamine faible</b>
<b>Cheval 6</b>	<b>Scopolamine forte</b>
<b>Cheval 7</b>	<b>Atropine faible</b>
<b>Cheval 8</b>	<b>Atropine forte</b>

Chaque cheval est supplémenté par deux gélules par jour réparties en deux prises, le matin et le soir.

La durée du traitement est de sept jours.

Le premier jour de l'expérimentation correspond à J 0 ; le second à J+1 ; le troisième à J+2 ... le dernier à J+6.

### **2.2.3. prélèvements urinaires**

Le prélèvement d'urine est une étape délicate car les chevaux ne sont pas toujours coopérants. En effet, un cheval urine de préférence dans un box propre, bien paillé et au calme.

Toutefois, les chevaux ont l'habitude d'uriner spontanément après un effort et c'est pourquoi les prélèvements sont réalisés le matin au retour du travail.

La pratique de ce prélèvement exige beaucoup de patience et de savoir faire, ainsi qu'une bonne connaissance de l'animal.

### **2.2.3.1. matériel et méthode**

L'urine est recueillie à l'aide d'un matériel adapté fourni par le L.A.B. Il s'agit d'un récipient en matière plastique à usage unique auquel s'adapte un long manche en bois. Un récipient est placé devant chaque box afin d'être opérationnel dès que le cheval rentre du travail.

Pour faciliter le déroulement de l'expérimentation, les chevaux sortent deux par deux. Dès leur retour, une personne se place discrètement à l'intérieur du boxe et attend la miction. Le récipient est placé délicatement sous le jet d'urine afin de ne pas perturber le cheval et de recueillir un volume suffisant.

### **2.2.3.2. conditionnement et stockage**

Les prélèvements doivent être réalisés dans le même timing tout au long de l'essai.

On procède de la façon suivante :

- prélèvement témoin à J -1
- prélèvement à J+4
- prélèvement à J+6

Au total, on pratique trois prélèvements par cheval d'un volume de 100 ml environ.

Une fois le prélèvement terminé, l'urine est transférée dans un flacon préalablement étiqueté.

L'étiquette comporte :

- le numéro du cheval
- le nom de la molécule et son dosage
- le jour du prélèvement

Chaque flacon clairement identifié est conservé à + 4 °C.

Les 24 prélèvements sont envoyés au laboratoire dès la fin de l'expérimentation animale pour être analysés.

## **2.3. phase analytique**

Cette dernière phase de l'expérimentation se déroule au laboratoire de la FNCF.

L'identification et le dosage des molécules à partir des échantillons urinaires se fait essentiellement par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Nous rappelons dans cette partie le principe de cette méthode, puis nous détaillerons les conditions d'analyse relatives à notre étude expérimentale.

### **2.3.1. principe général**

#### **2.3.1.1. *phase d'extraction***

Cette méthode de recherche nécessite une phase d'extraction préalable adaptée aux propriétés physico-chimiques de chaque molécule (2).

L'extraction consiste à faire passer le composé à extraire de la phase aqueuse où il se trouve initialement présent (urine) vers une phase organique (solvant d'extraction). Pour cela, le pH de la phase aqueuse est modifié de manière à rendre prédominante la forme non ionisée de la substance que l'on désire isoler. Ainsi les acides faibles seront extraits après acidification, alors que les bases faibles subiront une extraction en milieu basique (1).

Les extraits ainsi obtenus sont ensuite soumis à une chromatographie séparative.

#### **2.3.1.2. *principe de la GC/MS***

##### **✓ *La chromatographie en phase gazeuse***

La CPG est une méthode de séparation basée sur la distribution entre deux phases de composés d'un mélange volatil. La phase mobile est gazeuse et la phase fixe ou stationnaire peut être liquide ou solide.

Les composés qui ne sont pas naturellement à l'état gazeux sont rendus volatils par élévation de température afin d'être analysés par CPG (13).

Pour la CPG, l'appareillage est constitué de plusieurs éléments :

- la source de gaz
- la chambre d'injection
- le four dans lequel se trouve la colonne.

Le gaz vecteur ou éluant est un gaz très pur sous pression ; le choix du gaz vecteur dépend de la nature de l'échantillon et du détecteur.

La chambre d'injection doit provoquer la volatilisation instantanée de l'échantillon introduit et assurer un mélange homogène avec le gaz vecteur.

Le four porte les colonnes de chromatographie à la température désirée. Ces colonnes sont des colonnes capillaires constituées d'un long tube creux dont les parois de silice sont recouvertes d'un film de phase stationnaire. La polarité de cette phase doit être proche de celles des molécules à chromatographier (13).

#### ✓ **La spectrométrie de masse**

La spectrométrie de masse est une méthode d'analyse très spécifique permettant d'identifier une molécule par l'étude de son spectre de masse.

Le spectromètre de masse est un appareil qui crée des ions à partir de l'échantillon à analyser et sépare ses derniers suivant le rapport  $m/z$  (masse / charge de l'ion).

L'appareillage comprend :

- une source d'ions
- un analyseur de masse
- un détecteur et une interface électronique informatique.

Les molécules sont ionisées en mode impact électronique, analysées puis détectées. Le détecteur est un multiplicateur d'électrons constitué d'une chaîne de dynodes. A la sortie, le signal est amplifié puis mesuré par un système numérique d'acquisition des données et de traitement des informations par ordinateur.

L'acquisition des données se fait en mode « frill scan ». Cette méthode permet de superposer au courant ionique total, le profil d'un ion dont on veut plus particulièrement suivre la détection (13).

### **2.3.2. méthodes et conditions d'analyse relatives à l'expérimentation**

Dès leur réception au laboratoire d'analyse de Châtenay-Malabry, les prélèvements urinaires vont être enregistrés sous un numéro de référence laboratoire. Ils sont ensuite placés en chambre froide en attendant d'être analysés.

#### **2.3.2.1. recherche de la caféine et de la théobromine**

Cette recherche qualitative se déroule en deux étapes :

- extraction alcaline de l'échantillon
- analyse de l'extrait par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

#### **Préparation et mise à pH de l'urine**

Après avoir prélever une prise d'essai de 8 ml d'urine, il suffit d'ajouter l'étalon interne (diazépam), 4 ml d'eau déminéralisée et 500 mg de sulfate d'ammonium. Ensuite, on ajuste le pH de l'urine entre 9,4 et 9,8 avec de l'ammoniaque et on centrifuge.

#### **Extraction sur cartouche Bond Elut C18 HF**

La première étape de l'extraction repose sur le conditionnement de la cartouche par passage successif de méthanol et d'eau avant de charger de l'urine préparée. La cartouche étant chargée, on la rince successivement par de l'eau et de l'hexane. Entre les deux rinçages, on sèche la cartouche.

L'élution se fait par du chloroforme. Après avoir recueilli l'éluat, on procède à l'évaporation du solvant. L'extrait sec est repris dans 50 µl d'acétate d'éthyle.

## Analyse par GC / MS

### ✓ *matériel*

L'analyse par GC / MS est faite à l'aide d'un chromatographe HP 5890 avec une colonne capillaire Alltech AT 35 couplée à un spectromètre de masse HP 5971.

L'injecteur est de type HP 7673.

### ✓ *Conditions de chromatographie*

#### Paramètres chromatographiques

Gaz vecteur	Hélium
Longueur de colonne	30 m
Diamètre intérieur	0.25 mm
Epaisseur du film	0.25 µm
Pression en tête de colonne	13 psi
Température de l'injecteur	280 °C
Paramètres d'injection	1µl en mode splitless 45 sec

#### programme de température

Température initiale (°C)	Température finale (°C)	Rampe (°C/min)	Durée (min)
60	60	0	0.5
60	200	22	
200	270	10	
270	305	30	6

✓ **paramètres d'acquisition :**

Mode d'acquisition	Impact électronique en scan
Balayage	2.5 scan / sec
Température interface GC / MS	295 °C
Gamme de masse	40 à 500 uma

**2.3.2.2. recherche de l'atropine et de la scopolamine**

Cette recherche qualitative se déroule en quatre étapes :

- hydrolyse
- extraction sur cartouche
- dérivation
- analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

**Hydrolyse**

Tout d'abord, on prélève une prise d'essai de 5 ml à laquelle on ajoute l'étalon interne (atropine-d3). Ensuite, le pH est ajusté à 6.4 (+/- 0.2) à l'aide d'1 ml de tampon phosphate pH 6.5 1M.

L'urine ainsi préparée va subir l'action de deux enzymes : la  $\beta$ -glucuronidase et la protéase. On incube à l'étuve, une heure à 55 °C puis on centrifuge. On récupère 3.6 ml de surnageant auxquels on ajoute 1 ml de tampon phosphate pH 6.0 1M. Le pH est ajusté à 5.9 avec de l'acide acétique.

**Extraction sur cartouche**

Une cartouche de type Worldwide Monitoring ( réf : CSDAU 503) est conditionnée par passage d'eau, de méthanol et de tampon phosphate pH6.0 1M.

On fait ensuite passé l'échantillon d'urine hydrolysé et mis à pH sur la cartouche. Celle-ci est rincée successivement par de l'acide acétique 1M et du méthanol. Entre les deux rinçages, on sèche la cartouche.

L'élution se fait par 8 ml du mélange dichlorométhane / isopropanol / ammoniac. On évapore l'éluat sous courant d'azote à 55 °C.

### Dérivation pour analyse par GC / MS

En ce qui concerne l'analyse de l'atropine et de la scopolamine, il est nécessaire de réaliser une dérivation afin de pouvoir bien fixer les molécules.

Pour cela, l'extrait sec est repris par du dichlorométhane que l'on va ensuite évaporer à 45 °C au bloc chauffant pendant 12 heures. Au résidu bien sec, on ajoute 50 µl d'un mélange toluène anhydre / MSTFA (70/30). L'échantillon est alors placé une heure au bloc chauffant à 45 °C.

### Analyse par GC / MS

L'analyse par GC / MS se fait à l'aide d'un chromatographe HP 5890 série II équipé d'une colonne capillaire HP-5MS couplé à un spectromètre de masse HP MSD 5972. L'injecteur est de type HP 7673 piloté par PC équipé du logiciel HP ChemStation.

#### ✓ *conditions de chromatographie*

#### paramètres chromatographiques

Gaz vecteur	Hélium
Longueur de colonne	25 m
Diamètre intérieur	0.2 mm
Épaisseur du film	0.33 µm
Pression en tête de colonne	11.5 psi
Température de l'injecteur	275 °C
Paramètres d'injection	2 µl en mode splitless 45 sec

### programme de température

Température initiale (°C)	Température finale (°C)	Rampe ( °C/min)	Durée (min)
80	80	0	0.5
80	200	18	
200	305	8	
305	305	0	5

#### ✓ paramètres d'acquisition

Mode d'acquisition	Impact électronique en scan
Balayage	1.3 scan / seconde
Température de l'interface GC / MS	285 °C
Gamme de masse	50 à 600 uma

### 2.3.3. limites de détection

Il est important de préciser quelles sont les limites de détection des méthodes du L.A.B car elles seront nécessaires au calcul des doses à administrer lors de l'expérimentation.

Les LOD ( limit of detection) pour chacune des molécules sont les suivantes :

MOLECULE	LOD méthode
<b>Atropine</b>	<b>10 ng/ml</b>
<b>Scopolamine</b>	<b>10 ng/ml</b>
<b>Caféine</b>	<b>30 ng/ml</b>
<b>Théobromine</b>	<b>2 µg/ml</b>

### **3. ANALYSE DES ALIMENTS**

#### **3.1. alimentation quotidienne**

Les chevaux utilisés pour l'expérimentation reçoivent trois repas par jour et une ration de foin matin et soir.

Deux types d'aliments composent les principaux repas :

- un mélange d'orge et d'avoine concassées
- des granulés fabriqués industriellement par l'établissement Corrèze aliments.

<b>Moment du repas</b>	<b>Type d'aliments ( quantité en litre )</b>
Matin	Orge + avoine concassées ( 2 L )
Midi	Orge + avoine concassées ( 4 L ) + granulés (1 L)
Soir	Orge + avoine concassées ( 4 L )

#### **3.2. composition des granulés**

Les granulés sont constitués à partir des ingrédients suivant :

- grains de céréales
- produits et sous-produits de grains de céréales
- produits et sous-produits de graines oléagineuses
- fourrages séchés
- produits et sous-produits de la fabrication du sucre
- minéraux
- produits cellulosiques

### **3.3. contrôle des aliments**

Pour mener à bien l'expérimentation, il faut s'assurer que la nourriture reçue quotidiennement ne contient aucune trace d'atropine, de scopolamine, de caféine ou de théobromine.

Un échantillon de chaque type d'aliment (avoine, orge et granulés ) va être envoyé au laboratoire afin d'y être analysé.

#### **3.3.1. réception et analyse des échantillons**

##### **3.3.1.1. réception et identification**

Parmi les échantillons reçus, seul l'aliment « cheval complet » en granulés retient notre attention car les aliments industriels représentent la principale source de contaminants alimentaires, comme nous l'avons vu précédemment.

Dès sa réception, un numéro d'identification est attribué à l'échantillon afin de garantir sa traçabilité au sein du laboratoire.

##### **3.3.1.2. analyse et résultats**

Suivant les modes opératoires référencés au laboratoire, l'échantillon est analysé pour une recherche exclusive d'atropine, scopolamine, caféine et théobromine.

Le rapport d'analyse mentionne les résultats présentés dans le tableau suivant :

<b>ALIMENTS</b>	<b>MOLECULES RECHERCHEES</b>
GRANULES CHEVAL ETABLISSEMENTS CORREZE ALIMENTS	CAFEINE : négatif THEOBROMINE : négatif ATROPINE : positif SCOPOLAMINE : négatif

L'analyse révèle la présence d'atropine dans les granulés.

Bien que l'atropine n'ai été retrouvée que sous forme de traces, cet aliment devra être modifié puis contrôlé une nouvelle fois.

### 3.3.2. conséquences des résultats obtenus

#### 3.3.2.1. *modification des ingrédients*

Etant donné la positivité des aliments, le fabricant s'est engagé à modifier la composition qualitative des granulés avant de les soumettre à un nouveau contrôle.

Deux ingrédients vont être supprimés :

- la paille en granulés
- les produits mélassés

La nouvelle formule détaillée de l'aliment « cheval complet » en granulés est la suivante :

avoine noire	luzerne déshydratée
orge	pulpe de betterave
maïs, corn gluten	tourteau de tournesol
son de blé	minéraux

Ces granulés nouvellement formulés ont subi un deuxième contrôle au L.A.B et les résultats de cette analyse sont négatifs.

Nous pouvons donc en conclure que l'atropine provenait de l'un des deux ingrédients supprimés. L'origine exacte de la contamination n'est pas connue car aucune recherche supplémentaire n'a été effectuée. Néanmoins, la nouvelle formule établie par les établissements Corrèze aliments est bien exempte de tout contaminant alimentaire.

#### 3.3.2.2. *conséquence par rapport à l'expérimentation*

Afin de débiter l'expérimentation dans les délais prévus, les granulés Corrèze aliments vont être remplacés par des granulés déjà testés négativement ; il s'agit de l'aliment UAR « Hippo 63 ».

## **4. DETERMINATION DES DOSES A ADMINISTRER**

Pour déterminer les doses d'atropine, de scopolamine, de caféine et de théobromine à administrer au cours de l'expérimentation, il faut essentiellement s'intéresser aux données pharmacocinétiques fournies par la littérature.

### **4.1. rappels pharmacocinétiques**

Etudier la pharmacocinétique d'une substance consiste à administrer celle-ci à un animal, puis à la doser par des méthodes sensibles et sélectives, dans les liquides biologiques (1).

Dans le cadre de notre expérimentation, il faut s'intéresser au devenir des molécules dans l'organisme du cheval après une administration par voie orale.

On distingue quatre phases pharmacocinétiques :

- l'absorption
- la distribution
- les biotransformations
- l'élimination

#### **4.1.1. absorption et distribution**

L'absorption est définie comme le passage d'une substance dans les liquides circulants et en particulier dans le sang.

Après une administration d'une gélule par voie orale, l'absorption est précédée d'une phase de mise à disposition qui correspond à la libération du principe actif à partir de sa forme galénique.

L'absorption du principe actif se fait ensuite par la voie digestive.

Les substances circulant par voie sanguine sont alors distribuées dans l'organisme avant de subir diverses transformations.

### 4.1.2. métabolisme et élimination

La biotransformation d'une substance est un ensemble de réactions chimiques ayant pour conséquence de modifier la structure des molécules. Elle donne naissance à de nouvelles molécules appelées métabolites de dégradation.

L'élimination d'un composé en nature ou de son métabolite correspond à la libération de celui-ci dans le milieu extérieur. Elle se fait principalement par la voie rénale. Les dosages urinaires permettent donc de connaître la quantité de substance éliminée.

L'atropine et la scopolamine sont éliminées en grande partie sous forme glucuro-conjuguée, alors que la caféine et la théobromine se retrouvent dans les urines sous forme libre en majorité.

## 4.2. calcul des doses expérimentales

Le calcul des doses expérimentales repose sur les données pharmacocinétiques et dépend des limites de détection des méthodes employées au laboratoire (voir tableau p 55).

### 4.2.1. calcul du minimum minimorum à partir des critères analytiques

Le minimum minimorum correspond à la quantité de substance minimale éliminée par voie urinaire et par jour.

Il est facile de calculer le minimum minimorum en fonction de la diurèse et de la LOD. Considérant qu'un cheval peut émettre un volume urinaire minimal de 5 litres par jour, on obtient les résultats suivant pour chacune des molécules :

- **caféine**  $\Rightarrow 30 \times 5 = 150 \mu\text{g} / \text{j}$
- **théobromine**  $\Rightarrow 2 \times 5 = 10 \text{mg} / \text{j}$
- **atropine et scopolamine**  $\Rightarrow 10 \times 5 = 50 \mu\text{g} / \text{j}$

## 4.2.2. calculs à partir des données de la littérature

Dans un premier temps, nous cherchons à connaître quelles sont les quantités minimales de caféine, théobromine, scopolamine et d'atropine qu'un cheval peut ingérer par jour sans dépasser les limites de détection.

### 4.2.2.1. *caféine*

Après une administration de 2 g de caféine, les concentrations urinaires atteignent des niveaux de l'ordre de 15 000 ng/ml (14).

Pour ne pas dépasser 30 ng/ml cela suggère que la dose par voie orale doit être de l'ordre de 4000 µg/jour.

Choisissant de ne pas dépasser une dose journalière 4000 µg/jour au total et appliquant un facteur de sécurité de 5, nous obtenons une DJT de **800 µg/jour** pour la caféine.

### 4.2.2.2. *théobromine*

Lorsque l'on donne des aliments contenant de la théobromine à raison de 1.2 mg/kg d'aliment pendant 4 jours, les concentrations urinaires maximales sont de 550 ng/ml (15) c'est à dire inférieures à la LOD qui est de 2 µg/ml. Considérant qu'un cheval ingère environ 10kg d'aliment soit 12 mg/jour de théobromine et que l'on veut s'approcher de la LOD, il faut multiplier la dose par 3,6.

La dose calculée de théobromine est de 43 mg/jour mais en prenant un facteur de sécurité de 5, nous obtenons une DJT de **8.7 mg/jour**.

### 4.2.2.3. *scopolamine*

Avec une dose par voie orale de 7.65 µg/kg de poids corporel, le pic des concentrations urinaires de scopolamine a été de 100 ng/ml (16).

En conséquence, pour ne pas dépasser la LOD de 10 ng/ml, la dose doit être de l'ordre de 0.765 µg/kg de poids corporel.

Avec un facteur de sécurité de 5 et pour un cheval de 500 kg, nous obtenons une DJT de **75 µg/jour** pour la scopolamine.

#### 4.2.2.4. *atropine*

Pour une dose par voie orale de 2.33 µg/kg de poids corporel, le pic des concentrations urinaires d'atropine a été d'environ 10 ng/ml (16) c'est à dire la LOD.

Avec un facteur de sécurité de 5 et pour un cheval de 500 kg, nous obtenons une DJT de **233 µg/jour** pour l'atropine.

#### 4.2.2.5. *conclusion : doses journalières tolérables pour un cheval de 500 kg*

	Minimum minimorum	Données expérimentales
Caféine	150 µg/jour	800 µg/jour
Théobromine	10 mg/jour	8.7 mg/jour
Scopolamine	50 µg/jour	75 µg/jour
Atropine	50 µg/jour	233 µg/jour

## 5. EXPERIMENTATIONS

### 5.1. introduction

L'étude expérimentale débute par une première expérimentation où nous testons les doses calculées précédemment. Ensuite, nous réaliserons d'autres expérimentations en augmentant les doses administrées par paliers. Ainsi, nous pourrions déterminer, pour chaque substance, la dose à partir de laquelle les urines deviennent positives.

Dans un premier temps, nous détaillerons le déroulement de la première expérimentation. Par la suite, il faudra s'intéresser aux résultats obtenus au cours des autres études expérimentales effectuées.

## 5.2. expérimentation 1

### 5.2.1. protocole d'administration

L'expérimentation animale se déroule sur 8 jours de J – 1 à J + 6.

L'administration des 4 molécules étudiées se fait quotidiennement à partir de J 0, à l'aide de gélules mélangées à la nourriture.

Les chevaux sont nourris avec des aliments UAR testés négatifs comme nous l'avons vu auparavant, trois jours avant le début de l'expérimentation.

Pour chaque substance, nous avons déterminé une dose faible et une dose forte en fonction des résultats obtenus par le calcul.

Nous choisissons deux chevaux par molécule qui recevront chacun une gélule le matin et une gélule à midi.

#### *Protocole d'administration 1*

	<b>molécules</b>	<b>matin</b>	<b>midi</b>
<b>Cheval n°1</b>	Caféine faible	250 µg	250 µg
<b>Cheval n°2</b>	Caféine forte	500 µg	500 µg
<b>Cheval n°3</b>	Théobromine faible	2.5 mg	2.5 mg
<b>Cheval n°4</b>	Théobromine forte	10 mg	10mg
<b>Cheval n°5</b>	Scopolamine faible	25 µg	25 µg
<b>Cheval n°6</b>	Scopolamine forte	50 µg	50 µg
<b>Cheval n°7</b>	Atropine faible	50 µg	50 µg
<b>Cheval n°8</b>	Atropine forte	150 µg	150 µg

## 5.2.2. résultats de l'expérimentation 1

### 5.2.2.1. présentation des résultats

Les résultats obtenus lors de la première expérimentation sont présentés dans le tableau suivant :

molécule	Dose journalière	Prélèvement	Résultat final
Caféine	500 µg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
	1000 µg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
Théobromine	5 mg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
	20 mg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
Atropine	100 µg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
	300 µg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
Scopolamine	50 µg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif
	100 µg	J - 1	négatif
		J + 4 et J + 6	négatif

### 5.2.2.2. discussion

Après une supplémentation pendant 7 jours avec des doses de :

- 1000 µg / jour de caféine
- 20 mg / jour de théobromine
- 300 µg / jour d'atropine
- 100 µg / jour de scopolamine,

nous pouvons constater que les résultats obtenus sont tous négatifs.

Les doses qui ont été administrées lors de cette expérimentation 1 sont donc trop faibles pour que l'on décèle la présence de l'une des quatre substances étudiées.

En effet, pour déterminer les DJT, Il faut savoir à partir de quelles doses les prélèvements urinaires deviennent positifs.

### **5.3. expérimentations 2 et 3**

Au cours des ces deux expérimentations, de nouvelles doses vont être testées afin de déterminer plus précisément quelles sont les doses journalières tolérables pour la caféine, la théobromine, l'atropine et la scopolamine.

Les doses administrées au cours des expérimentations 2 et 3 sont très nettement supérieures aux doses testées lors de la première expérimentation.

Celles-ci sont choisies de façon plus ou moins aléatoire en fonction des résultats obtenus au cours des multiples contrôles antidopage réalisés au LAB depuis de nombreuses années.

#### **5.3.1. expérimentation 2**

##### **5.3.1.1. *protocole d'administration 2***

cheval	molécules	Doses à administrer pendant 7 jours	
		matin	midi
N°1	Caféine faible	2 mg	2 mg
N°2	Caféine forte	4 mg	4 mg
N°3	Théobromine faible	22.5 mg	22.5 mg
N°4	Théobromine forte	43 mg	43 mg
N°5	Atropine faible	2 400 µg	2 400 µg
N°6	Atropine forte	4 800 µg	4 800 µg
N°7	Scopolamine faible	1 500 µg	1 500 µg
N°8	Scopolamine forte	3 000 µg	3 000 µg

### 5.3.1.2. présentation des résultats

molécule	Dose journalière	Prélèvements	Résultats
cafeine	4 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif négatif
	8 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif négatif
théobromine	45 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>1,15 µg / ml</b>
	86 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>2,15 µg / ml</b>
atropine	4 800 µg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif négatif
	9 600 µg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif négatif
scopolamine	3 000 µg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif négatif
	6 000 µg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif négatif

### 5.3.1.3. discussion

Les prélèvements urinaires réalisés à J - 1 se révèlent tous négatifs et ceci permet d'affirmer l'absence de contamination dans le processus analytique.

L'examen des résultats obtenus au cours de cette deuxième expérimentation montre que seule la théobromine a été mise en évidence lors de l'analyse des urines.

✓ **Aspect qualitatif : examen du chromatogramme et du spectre de masse pour la théobromine**

L'étude du chromatogramme obtenu après analyse d'un échantillon des urines d'un cheval supplémenté en théobromine révèle la présence d'un pic au temps de rétention de 8,43 minutes (figure 1a).

Le spectre de masse réalisé sur le composé ainsi isolé montre la présence de fragments de masses  $m/z$  208,  $m/z$  180 et  $m/z$  109 caractéristiques de la théobromine (figure 1b).

Ce résultat est en accord avec les données spectrales et chromatographiques obtenues à partir d'un échantillon témoin supplémenté en théobromine et analysé dans les mêmes conditions.

✓ **Aspect quantitatif**

Pour une dose de 45 mg / j de théobromine, le taux urinaire est de 1,15  $\mu\text{g}$  / ml alors que pour une dose de 86 mg / j, celui-ci est de 2,15  $\mu\text{g}$  / ml. La comparaison entre la dose faible et la dose forte montre que les résultats sont cohérents.

Pour la théobromine, il existe déjà un seuil fixé à 2  $\mu\text{g}$  / ml. Pour obtenir un tel taux urinaire, la dose administrée au cheval se situerait donc autour de 80 mg / j. Donc, pour ne pas dépasser ce seuil nous pouvons fixer une DJT de 75 mg.

D'autre part, les résultats pour la caféine, l'atropine et la scopolamine étant négatifs, nous pouvons en conclure que les doses administrées sont encore trop faibles pour déceler la présence de ces molécules dans les échantillons urinaires testés.

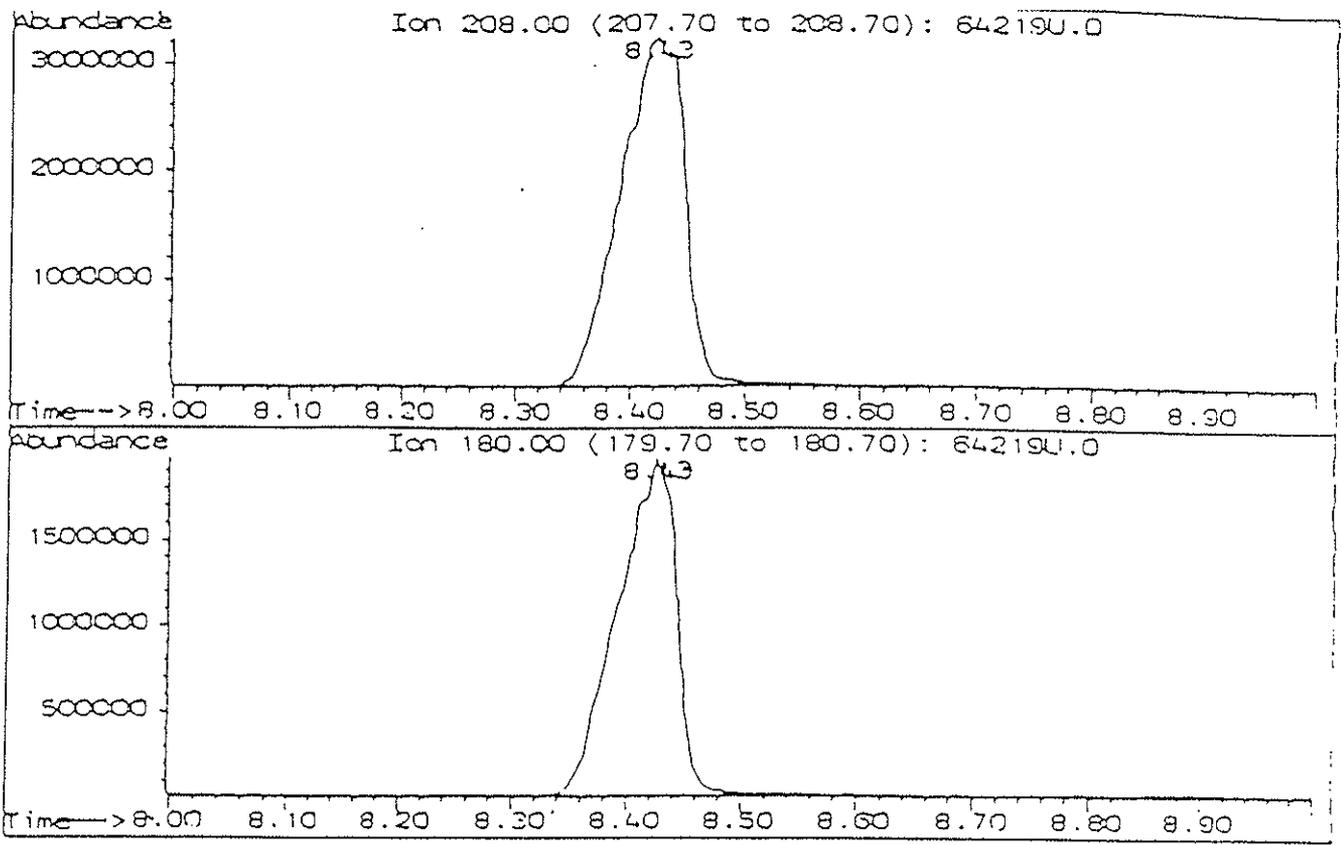


Figure 1a : chromatogramme

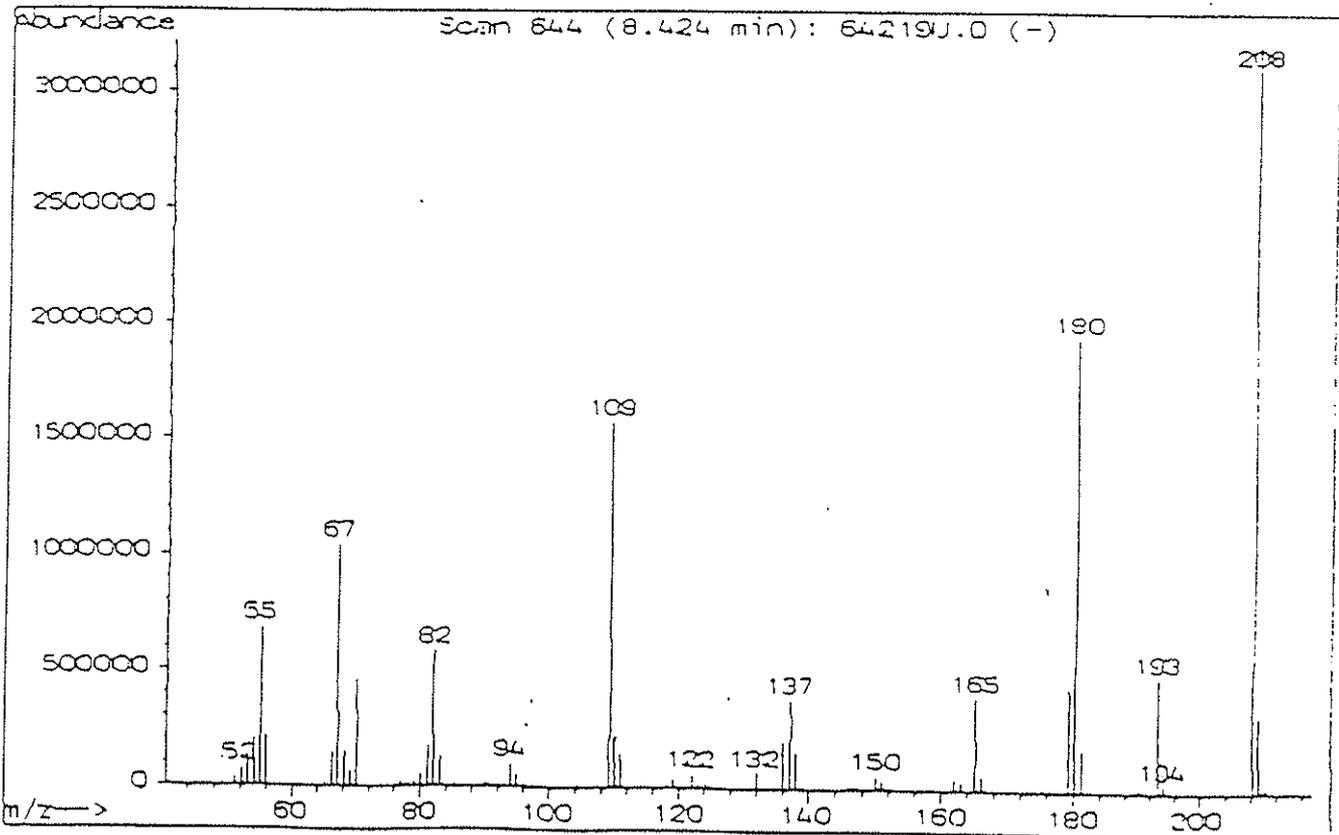


Figure 1b : spectre de masse

### 5.3.2. expérimentation 3

#### 5.3.2.1. protocole d'administration 3

cheval	molécules	Doses à administrer pendant 7 jours	
		matin	midi
N°1	Caféine faible	8 mg	8 mg
N°2	Caféine forte	20 mg	20 mg
N°5	Atropine faible	7.5 mg	7.5 mg
N°6	Atropine forte	22.5 mg	22.5 mg
N°7	Scopolamine faible	7.5 mg	7,5 mg
N°8	Scopolamine forte	15 mg	15 mg

#### 5.3.2.2. présentation des résultats

molécule	Dose journalière	prélèvement	Résultat final
Caféine	16 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>40 ng / ml</b>
	40 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	Négatif <b>70 ng / ml</b>
Atropine	15 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>20 ng / ml</b>
	45 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>969 ng / ml</b>
scopolamine	15 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>88 ng / ml</b>
	30 mg	J - 1 J + 4 et J + 6	négatif <b>346 ng / ml</b>

### 5.3.2.3. *discussion*

Pour cette troisième expérimentation, nous pouvons observer encore une fois que tous les prélèvements urinaires réalisés à  $j - 1$  sont négatifs. L'absence de contamination dans le processus analytique est donc confirmée.

Par contre les résultats montrent que pour les trois molécules, les prélèvements urinaires réalisés après supplémentation sont positifs.

- ✓ *Aspects qualitatifs : examen des chromatogrammes et des spectres de masse pour la caféine, l'atropine et la scopolamine*

#### a) caféine

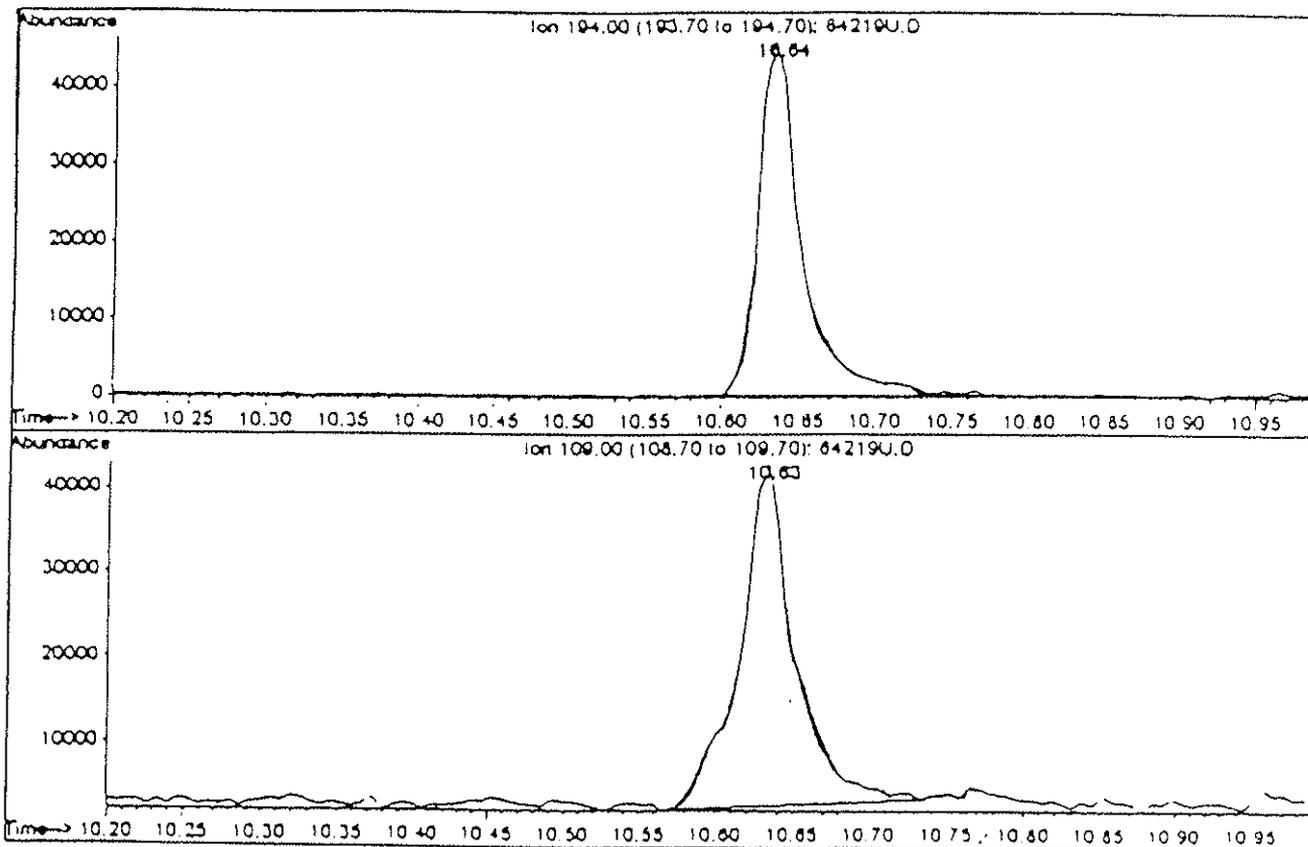


figure 2a : chromatogramme

L'étude du chromatogramme obtenu après analyse d'un échantillon de l'urine d'un cheval supplémenté en caféine révèle la présence d'un pic au temps de rétention de 10,63 minutes.

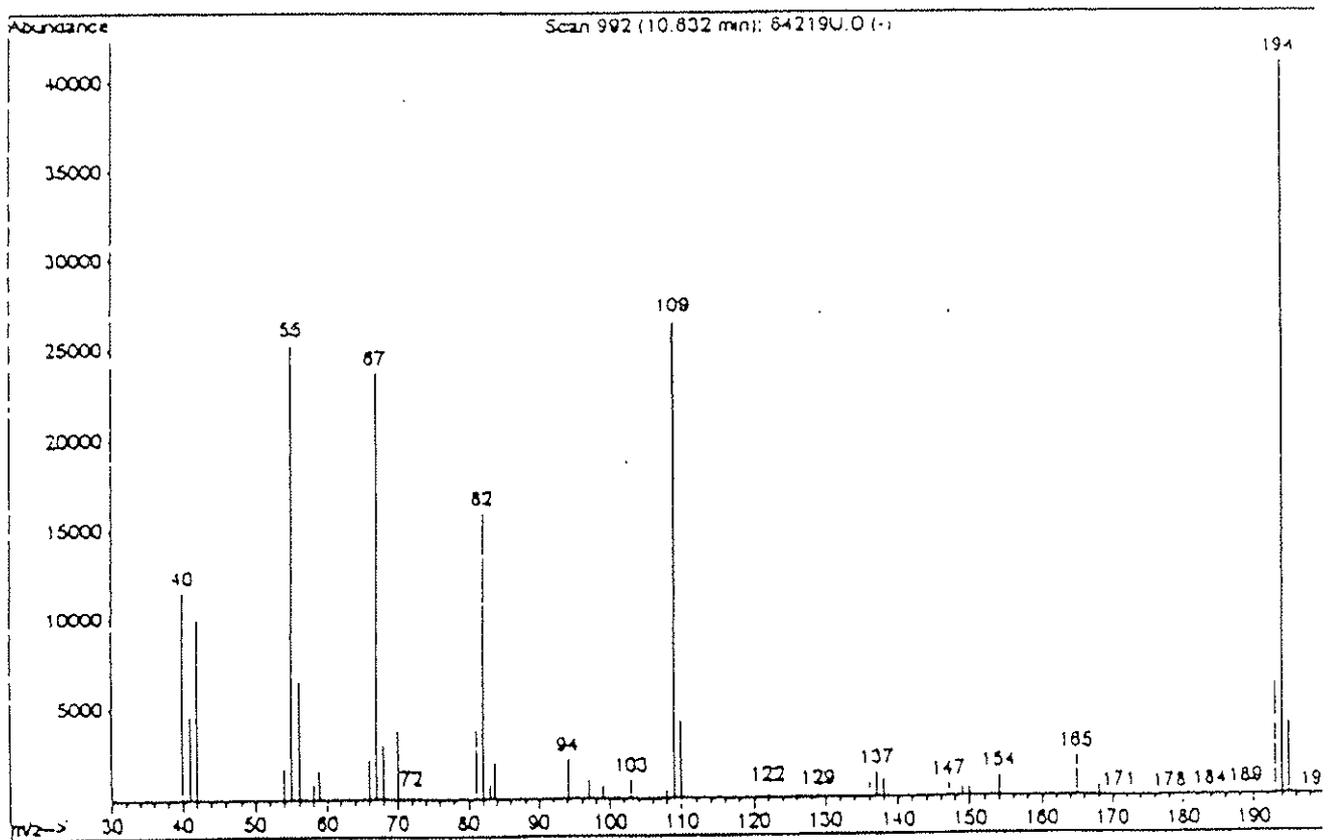
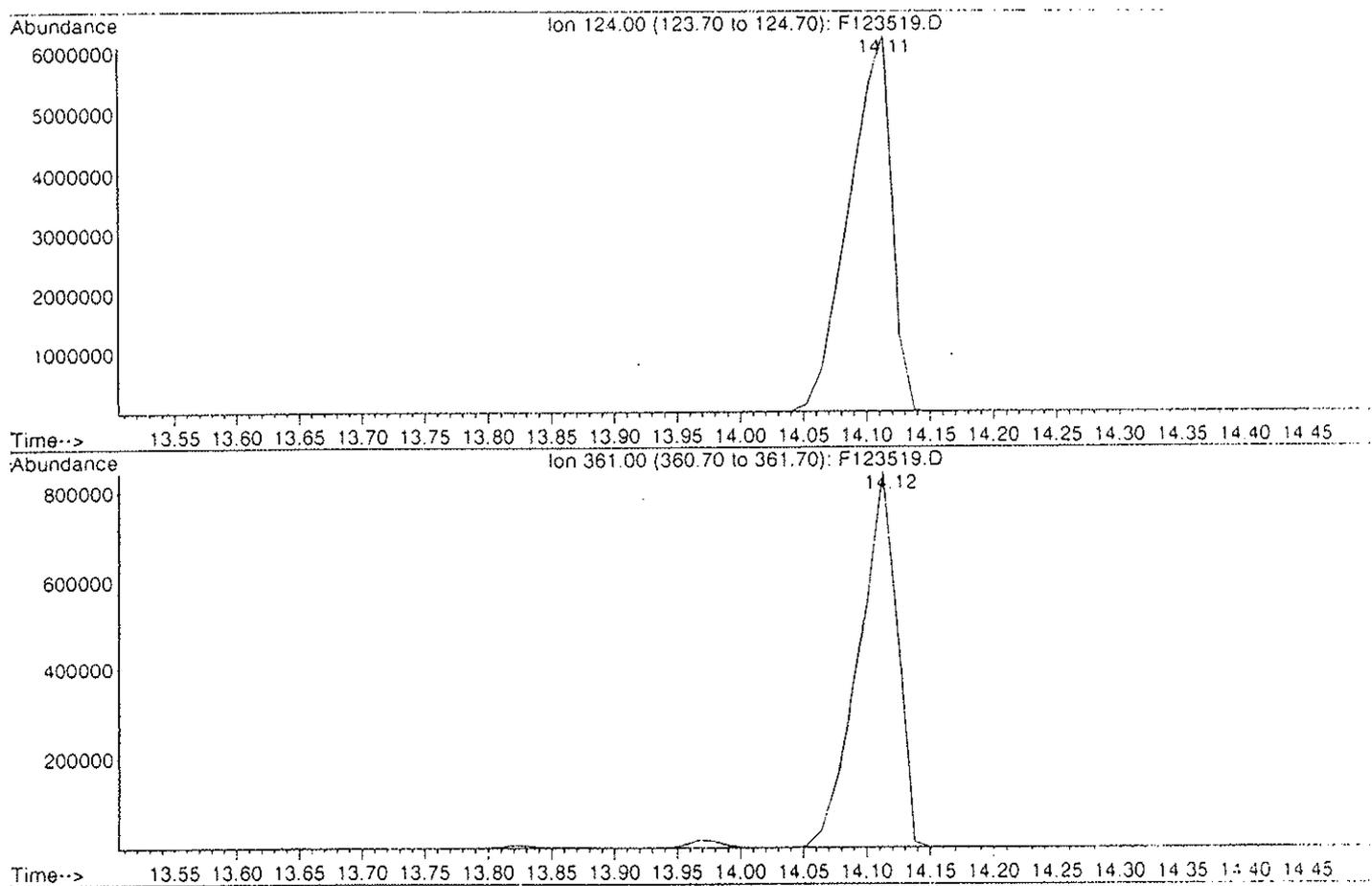


Figure 2b : Spectre de masse

Le spectre de masse réalisé sur le composé ainsi isolé montre la présence de fragments de masses  $m/z$  194,  $m/z$  109 et  $m/z$  82 caractéristique de la caféine.

**b) atropine**



*figure 3a : chromatogramme*

L'étude du chromatogramme correspondant à l'échantillon de l'urine d'un cheval supplémenté en atropine révèle la présence d'un pic au temps de rétention de 14,11 minutes.

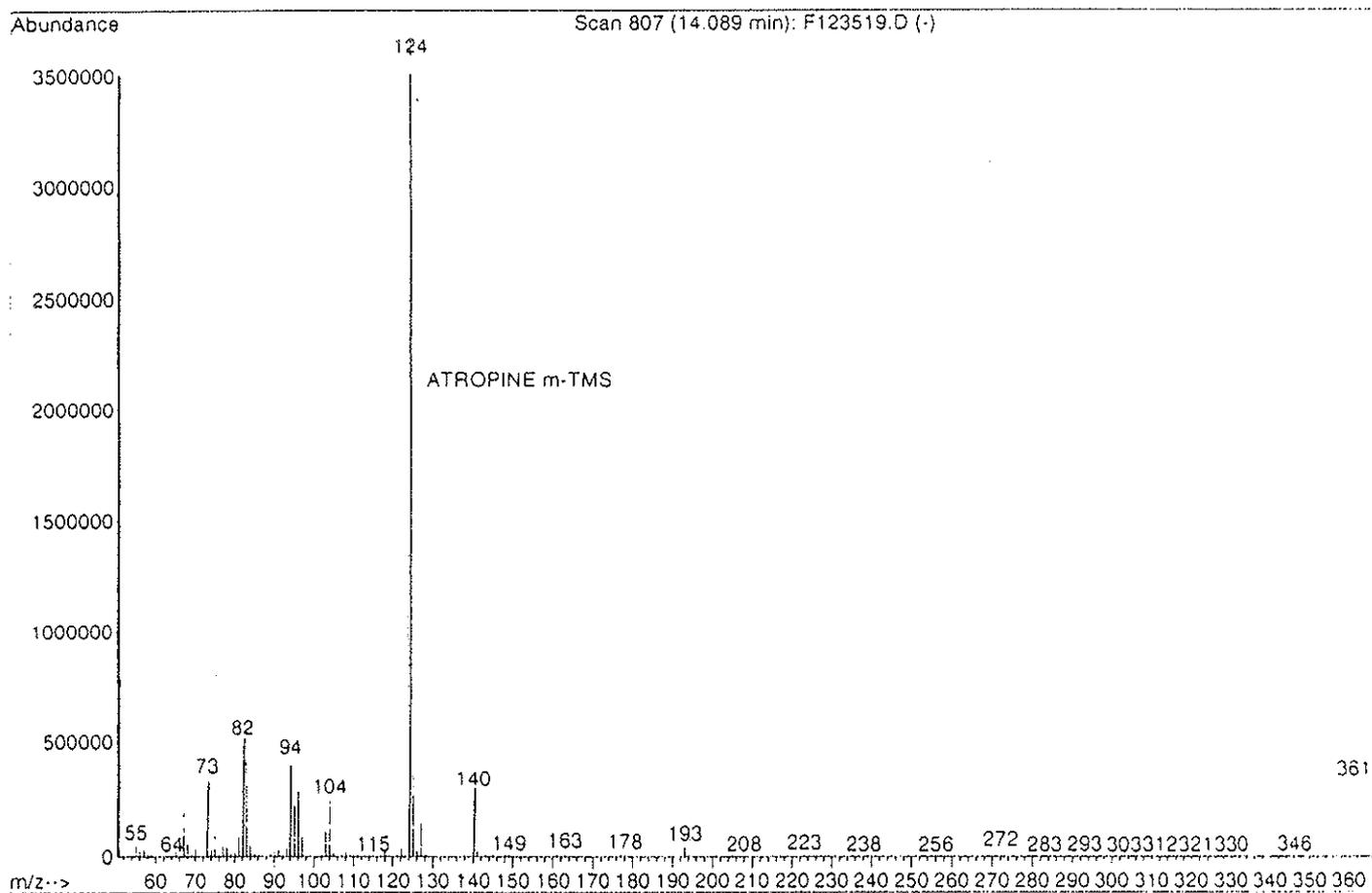
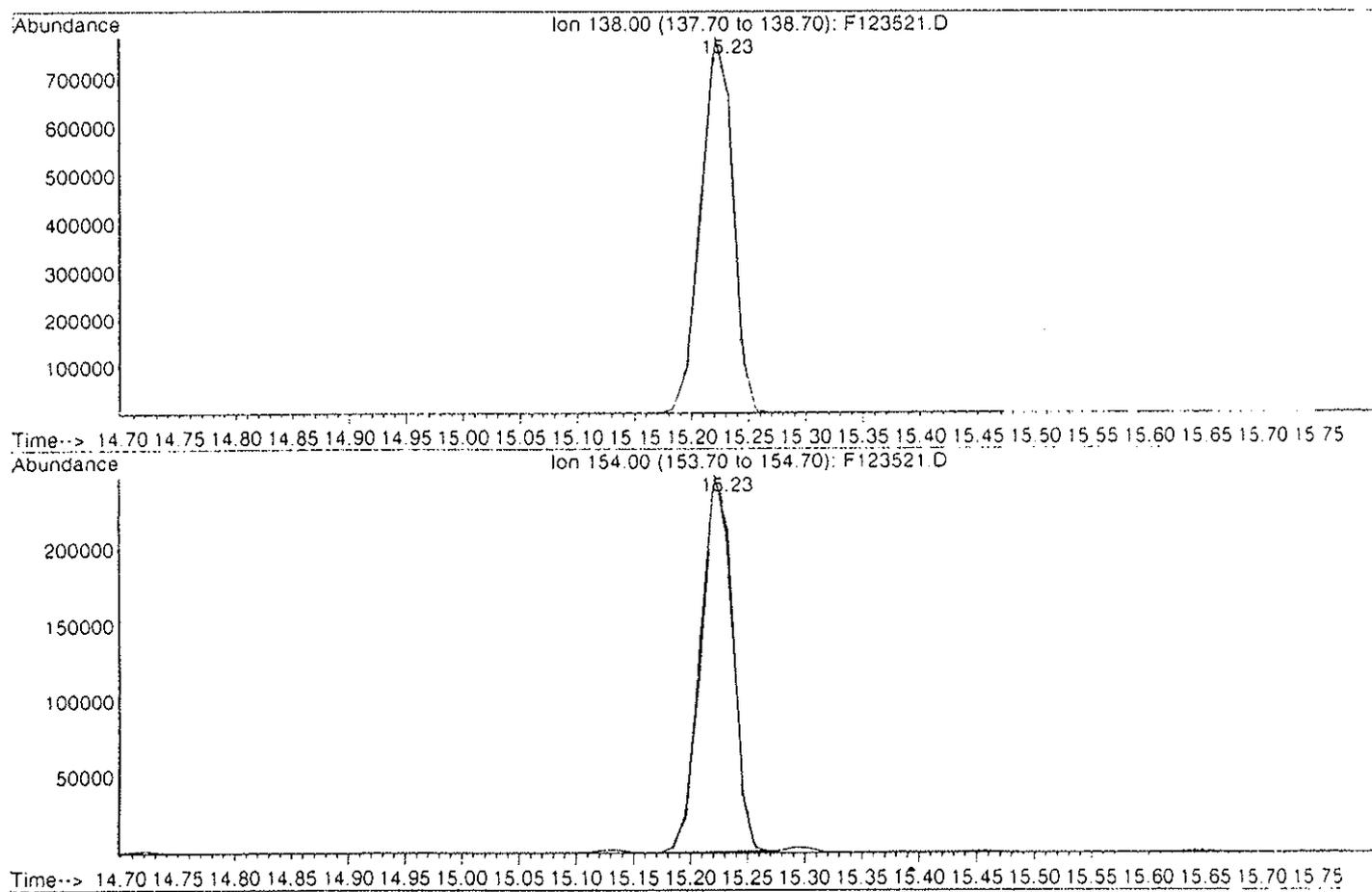


Figure 3b : Spectre de masse

Le spectre de masse montre la présence de fragments de masses  $m/z$  124 et  $m/z$  361 caractéristiques de l'atropine.

**c) scopolamine**



*figure 4a : chromatogramme*

L'examen du chromatogramme correspondant à un échantillon de l'urine d'un cheval supplémenté en scopolamine révèle la présence d'un pic au temps de rétention de 15,23 minutes.

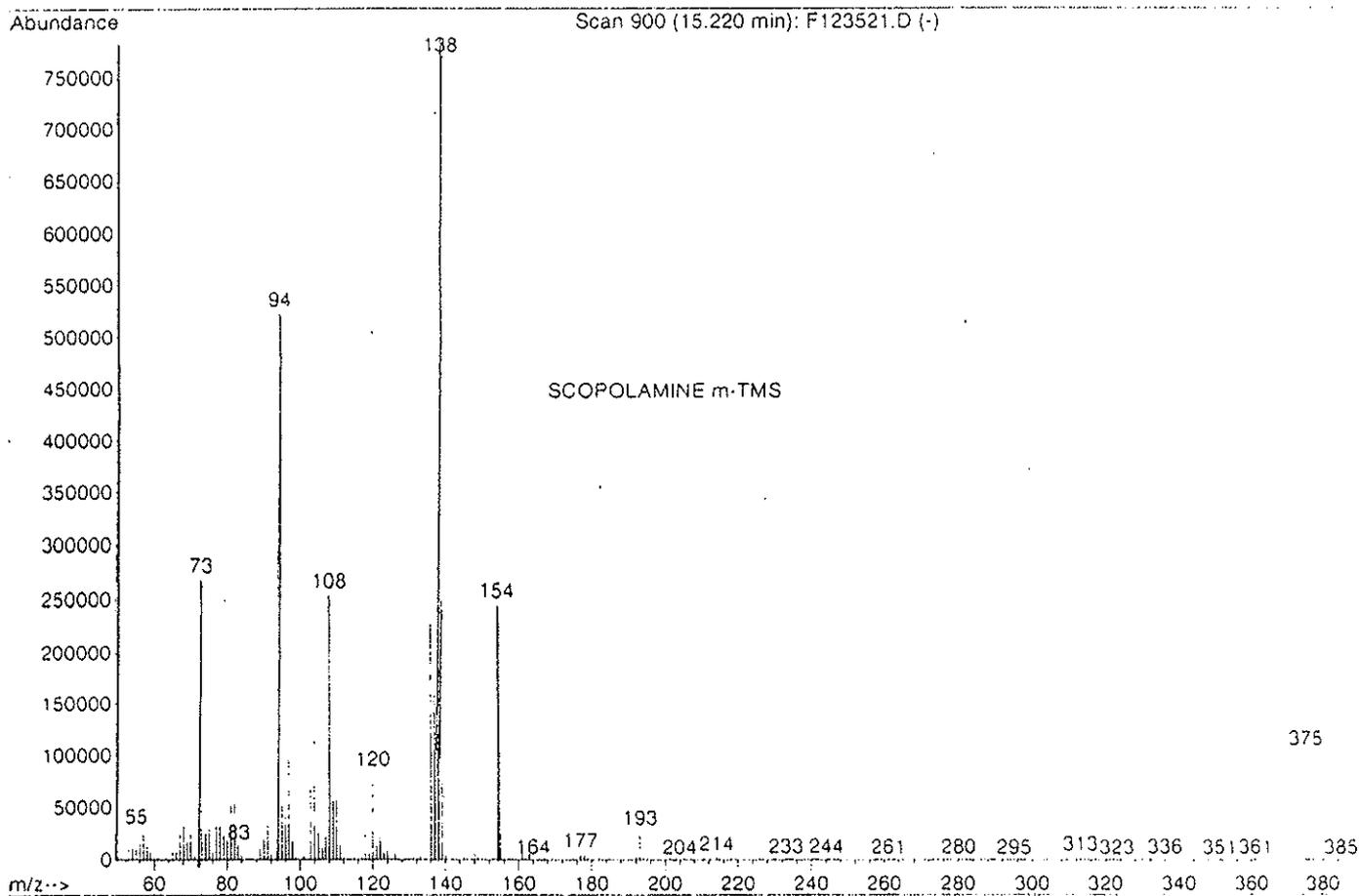


Figure 4b : Spectre de masse

Le spectre de masse réalisé sur ce composé montre la présence de fragments de masses m/z 138 et m/z 154 caractéristiques de la scopolamine.

✓ **Aspects quantitatifs :**

**a) caféine**

Après administration d'une dose de 16 mg / j de caféine, le taux urinaire obtenu est de 40 ng / ml alors que pour une dose de 40 mg / j, le résultat est de 70 ng / ml. Sachant que pour 8 mg / j (cf. expérimentation 2) la caféine n'est pas décelée dans les urines, nous pouvons conclure que la DJT se situe entre 8 et 16 mg / jour.

**b) atropine**

Au cours de cette expérimentation, l'atropine est administrée sous forme de poudre orale afin de rejeter l'hypothèse d'une mauvaise absorption digestive. Les gélules ont été remplacées par la spécialité EKYPULMIL\*.

Les résultats obtenus après l'administration d'une dose de 15 mg / j d'atropine (soit 1 cuillère à soupe matin et soir d'EKYPULMIL\*) donnent un taux urinaire de 20 ng / ml alors que pour une dose de 45 mg / j (soit 3 cuillères à soupe matin et soir) , le taux est de 969 ng / ml soit environ 1 µg / ml.

Sachant que pour 9,6 mg / j ( cf. expérimentation 2), l'atropine n'est pas décelée dans les urines, nous pouvons admettre que la DJT se situe entre 10 et 15 mg.

La posologie usuelle de ce médicament étant de 2 cuillères à soupe matin et soir, nous pouvons donc en conclure que les taux urinaires obtenus après une administration d'atropine sous sa forme médicament sont plus importants que ceux obtenus après une contamination alimentaire.

**c) scopolamine**

Les taux urinaires de scopolamine atteignent 88 ng /ml et 346 ng / ml pour des doses respectives de 15 mg / j et 30 mg / j.

D'après les résultats obtenus lors de la deuxième expérimentation, la scopolamine n'est pas décelée dans les urines pour une dose de 6 mg / j. Nous pouvons donc en conclure que la DJT se situe entre 6 et 15 mg.

## **6. CONCLUSION**

L'expérimentation concernant les contaminants alimentaires s'est déroulée selon le protocole préconisé pour cette étude, mais néanmoins il a fallu élargir notre recherche en fonction des résultats obtenus.

En effet, les résultats fournis par la première expérimentation étant tous négatifs nous avons réalisé d'autres essais avec de nouvelles doses à tester.

Les résultats finaux obtenus au cours des expérimentations sont présentés dans le tableau récapitulatif qui suit :

MOLECULE	Estimation de la Dose Journalière Tolérable
<b>THEOBROMINE</b>	<b>75 mg</b>
<b>CAFEINE</b>	<b>entre 8 et 16 mg</b>
<b>ATROPINE</b>	<b>entre 10 et 15 mg</b>
<b>SCOPOLAMINE</b>	<b>entre 6 et 15 mg</b>

Pour la théobromine, nous avons fixé une DJT bien précise car pour cette molécule, il existe officiellement un seuil urinaire autorisé de 2 µg / ml.

Pour la caféine, l'atropine et la scopolamine, nous considérons que la DJT se situe à la limite de la positivité des prélèvements. Ces résultats ne sont pas définitifs, ce ne sont que des estimations mais représentent une avancée non négligeable par rapport aux problèmes causés par les contaminants alimentaires. De nouveaux travaux expérimentaux réalisés sur un plus grand nombre de chevaux et s'appuyant sur ces résultats, permettront certainement de fixer précisément une DJT pour ces trois molécules, afin de ne pas interférer avec le contrôle antidopage.

# **CONCLUSION GENERALE**

## **CONCLUSION GENERALE**

Alors que les axes de recherche et les publications scientifiques concernant le contrôle antidopage sont plus fréquemment orientés vers le genre humain, l'étude du rôle des contaminants alimentaires mis en cause chez le cheval permet de mettre en avant cette catégorie « d'agents dopants » propre aux animaux.

Dans le monde des courses hippiques, de nombreux cas de dopage avéré sont dépistés chaque année. Cependant, il est possible qu'un prélèvement positif ne soit pas forcément synonyme de fraude, notamment s'il s'agit de substances pouvant provenir de l'alimentation.

En effet, des molécules comme l'atropine ou la scopolamine, sont des principes actifs présents dans les plantes de la famille des solanacées, elles-mêmes très répandues dans nos prairies et pouvant polluer les fourrages distribués aux chevaux. De plus, il est établi que la caféine et la théobromine contenues dans les résidus de cosses de cacao entrant dans la composition de certains aliments industriels, peuvent provoquer la positivité des prélèvements.

La contamination des aliments est un phénomène connu depuis longtemps et même si les cas de positivité diminuent chaque année, c'est un problème récurrent. Au cours de notre étude expérimentale, nous avons pu le prouver une nouvelle fois avec l'exemple des granulés Corrèze aliments qui contenaient de l'atropine.

Lors d'un contrôle positif mettant en cause un éventuel contaminant alimentaire, une enquête est menée afin d'établir la responsabilité de l'entraîneur. Celle-ci peut être partiellement dérogée si la preuve de la pollution de l'alimentation est apportée, mais la disqualification du cheval reste inévitable. Pour échapper à de tels désagréments, il faut s'assurer de la qualité et de l'innocuité des aliments auprès du fabricant auquel devraient être imposées des normes très strictes.

En outre, il existe une deuxième solution qui repose sur la détermination des Doses Journalières Tolérables pour ces polluants de l'alimentation. Ces DJT permettraient de ne pas positiver les contrôles antidopage.

Les travaux expérimentaux réalisés sur les quatre molécules choisies pour notre étude fournissent des résultats intéressants. Nous avons pu faire une estimation de la DJT pour la théobromine, la caféine, l'atropine et la scopolamine mais d'autres expérimentations animales seront nécessaires.

En effet, pour cette étude pilote, nous n'avons pas tenu compte des possibles variations individuelles. Il serait donc intéressant d'exploiter les résultats obtenus en réalisant de nouveaux travaux sur un effectif de chevaux plus important et en fixant des critères de sexe et d'âge par exemple.

Néanmoins, les DJT établies au cours de nos expérimentations montrent bien que des aliments faiblement pollués ne devraient pas engendrer la positivité des prélèvements urinaires réalisés lors des contrôles antidopage.

De plus, même si l'atropine, la scopolamine, la caféine et la théobromine restent des substances prohibées, nous pouvons admettre, qu'administrées à faibles doses, elles ne sont peut-être pas susceptibles d'influencer la performance des chevaux par rapport à d'autres agents dopants.

Cette étude permet donc d'entrevoir une amélioration au niveau du contrôle antidopage en diminuant les risques de contamination des prélèvements urinaires par des substances provenant de l'alimentation. Ainsi, les contrôles, plus axés sur la détection d'autres molécules considérées comme des dopants majeurs, seront d'autant plus efficaces.

# **BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE

(1) COURTOT. D, JOUSSAUD. P

Le contrôle antidopage chez le cheval : techniques et pratiques.

Paris : INRA, 1990 – 156p.

(2) BONNAIRE. Y

Le dopage de l'animal de compétition.

In : Dopage et société, Laure. P

Paris : Ellipses, 2000 – pp 420-433.

(3) Cinquante ans de contrôle antidopage

La gazette du laboratoire, janvier 1999, n°34 – pp 3-8.

(4) MARTIN-ROSSET. W

L'alimentation des chevaux.

Paris : INRA, 1990 – 232p.

(5) BALLEREAU. B, BELLOIR. JF, BLANCHE. B

Le Larousse du cheval.

Paris : Larousse, 2000 – pp 184-190.

(6) GUIGAN. S

Soins aux chevaux : objectif santé.

Paris : Maloine, 1991 – pp 35-71.

- (7) BRUNETON. J  
Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition.  
Paris : Techniques et documentation, 1999 – 1120p.
- (8) DORVAULT. F  
L'officine. 23<sup>ème</sup> édition.  
Paris : Vigot, 1995 – 2089p.
- (9) TOUITOU. Y, PERHMUTER. L  
Dictionnaire pratique de pharmacologie clinique.  
Paris : Masson, 1986 – 378p.
- (10) MOLLEREAU. H, PORCHER. C, NICOLAS. E  
Vade-macemum du vétérinaire – troisième édition.  
Paris : Vigot frères, 1980.
- (11) MEISSONNIER. E, DEVISME. P, JOIN-LAMBERT. P  
Dictionnaire des médicaments vétérinaires – 6<sup>ème</sup> édition.  
Paris : Editions du point vétérinaire, 1995.
- (12) BARBAUD, BOULU, BZOURA  
Dictionnaires des sciences pharmaceutiques et biologiques.  
Paris : Louis Parienté, 1997.
- (13) TOBIN. Th  
Drugs and the performance horse  
Springfield : Charles C. Thomas, 1981 – 463p.
- (14) BELLEVILLE. F, DOUSSET. B, FRANCK. P, WASELS. R  
Détection des produits.  
In : Dopage et société, Laure. P.  
Paris : Ellipses, 2000 – pp 303-417.

(15) HERSKOVITS. P, MENDOCA. M, TODI. F

The confirmation and control of metabolic caffeine in standardbred horses after administration of theophylline.

J. Vet. Pharmacol. Therap., 1999 – pp 333-342.

(16) HARKINS. JD, REES. WA

An overview of the methylxanthines and their regulation in the horse.

Equine practice, 1998 – pp 10-16.

(17) FRANCIS. T, GALEY. FD, HOLSTEGE. DM

Residues of datura species in horses.

Proceedings of the international conference of racing analysts and veterinarians, Queensland, Australia, 1999 – pp 333-337.

# **TABLE DES MATIERES**

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>8</b>
<b>PREMIERE PARTIE : ASPECTS REGLEMENTAIRES.....</b>	<b>11</b>
1. Introduction.....	12
2. Quelques dates.....	12
3. Texte de référence.....	13
4. Mesures préventives.....	20
5. Conclusion.....	23
<b>DEUXIEME PARTIE : LES CONTAMINANTS ALIMENTAIRES.....</b>	<b>24</b>
1. Introduction.....	25
2. L'alimentation du cheval.....	25
3. Etude des contaminants alimentaires.....	28
4. Conclusion.....	43
<b>TROISIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>44</b>
1. Introduction.....	45
2. Présentation de l'étude pilote.....	45
3. Analyse des aliments.....	56
4. Détermination des doses à administrer.....	59
5. Expérimentations.....	62
6. Conclusion.....	77
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>78</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>81</b>
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>85</b>

## SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 330

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

**RESUME :**

La première partie de ce travail est consacrée aux aspects réglementaires de la lutte contre le dopage dans le domaine des courses hippiques. Parmi les nombreuses substances prohibées, il existe une catégorie spécifique au niveau du contrôle antidopage chez le cheval : les contaminants alimentaires. Certaines molécules, comme l'atropine, la scopolamine, la caféine et la théobromine, pouvant provenir de l'alimentation quotidienne des chevaux, peuvent être détectées lors de l'analyse des prélèvements urinaires réalisés dans le cadre du contrôle antidopage.

Ceci pose un réel problème et, la seconde partie de cette étude permet de mieux connaître l'origine de la contamination des aliments et de bien définir le rôle de ces polluants.

Dans une troisième partie, l'étude expérimentale mise en place par le L.A.B en collaboration avec le Haras National de Pompadour, a permis de déterminer quelles sont les doses d'atropine, de scopolamine, de caféine et de théobromine, administrées par voie orale, qui ne provoquent pas la positivité des urines. En fonction des résultats obtenus au cours des différentes expérimentations, nous avons pu établir une estimation des Doses Journalières Tolérables pour chacune de ces molécules.

**MOTS-CLES :**

- contrôle antidopage
- contaminants alimentaires
- atropine
- scopolamine
- caféine
- théobromine
- cheval

**JURY :**

Président : Monsieur le Professeur HABRIOUX

Juges : Monsieur BONNAIRE, Docteur eS Sciences pharmaceutiques

Monsieur COMBY, Maître de conférence

Madame HYLLAIRE, Docteur en pharmacie