

| | | | |
|---------------|--|----------------------------|--------------------------------|
| Document n° : | TD2017MRPL-FR | Version n° : | 1.0 |
| Rédaction : | Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA | Approuvé par : | Comité exécutif de l'AMA |
| Date : | 17 mai 2017 | Date d'entrée en vigueur : | 1 ^{er} septembre 2017 |

NIVEAUX MINIMAUX DE PERFORMANCE REQUIS POUR LA DÉTECTION ET L'IDENTIFICATION DES SUBSTANCES SANS SEUIL

Tous les laboratoires accrédités par l'AMA doivent être en mesure de détecter la présence des *substances interdites* ou de leur(s) *métabolite(s)* ou *marqueur(s)* de façon uniforme, et c'est pour s'en assurer qu'a été établie une capacité minimale de détection et d'identification de routine, applicable aux méthodes d'analyse. Il est admis que certains laboratoires sont plus aptes que d'autres à détecter de plus faibles concentrations de *substances interdites*. Cette diversité est reconnue, et même encouragée dans la mesure où elle constitue un facteur d'amélioration du système dans son ensemble, mais il est nécessaire que soient définis des niveaux minimaux de performance requis (NMPR) que tout laboratoire devra être capable de satisfaire (Tableau 1).

1.0 Niveaux minimaux de performance requis (NMPR)

Les NMPR ont pour objectif d'harmoniser les performances analytiques des méthodes utilisées pour la détection des substances sans seuil. Les NMPR sont des paramètres analytiques de performance technique obligatoires établis par l'AMA auxquels les laboratoires doivent se conformer lorsqu'ils effectuent des analyses pour déterminer la présence d'une *substance interdite*, de son ou ses *métabolite(s)*, ou de son ou ses *marqueur(s)*. Le NMPR est la concentration minimum de *substance interdite* ou *métabolite* d'une *substance interdite* ou *marqueur* d'une *substance interdite* ou *méthode interdite* que les laboratoires doivent être capables de détecter de manière fiable et d'identifier dans leurs opérations quotidiennes de routine.

- Le NMPR n'est ni un seuil (S) ni une limite de détection (LD). Des concentrations inférieures aux valeurs établies pour les NMPR peuvent parfaitement donner lieu à des *résultats d'analyse anormaux* ;
- Les valeurs de NMPR sont pertinentes pour la détection et l'identification de substances sans seuil; elles ne sont pas applicables aux substances à seuil, qui sont couvertes par d'autres Documents techniques (par exemple TDDL¹, TDGH²);
- Les valeurs de NMPR sont établies en prenant en compte le métabolisme, la stabilité, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la *substance interdite*. Ainsi, des substances qui ont un effet dopant à long terme qui sont interdites en permanence (par exemple les stéroïdes anabolisants) auront une valeur de NMPR plus basse que des substances qui sont prises pour un effet ergogénique immédiat et qui sont interdites *en compétition* seulement (par exemple les stimulants);
- Le NMPR est établi pour la *substance interdite* proprement dite et/ou son (ses) *métabolite(s)* , *marqueur(s)* ou produit(s) de dégradation selon leur degré de métabolisme et/ou de stabilité dans la matrice de l'*échantillon* ;

¹ Document technique TDDL de l'AMA : limites de décision pour la quantification confirmatoire de substances à seuil.

<https://www.wada-ama.org/fr/nos-activites/science-et-medecine/laboratoires>

² Document technique TDGH de l'AMA : application des immunoessais différentiels des isoformes pour la détection de l'hormone de croissance (hGH) dans les analyses antidopage.

<https://www.wada-ama.org/fr/nos-activites/science-et-medecine/laboratoires>

Document technique de l'AMA – TD2017MRPL-FR

| | | | |
|---------------|--|----------------------------|--------------------------------|
| Document n° : | TD2017MRPL-FR | Version n° : | 1.0 |
| Rédaction : | Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA | Approuvé par : | Comité exécutif de l'AMA |
| Date : | 17 mai 2017 | Date d'entrée en vigueur : | 1 ^{er} septembre 2017 |

Etant donné que le métabolisme et l'excrétion des *substances interdites* peuvent varier substantiellement en fonction du temps après l'administration, il est important que les laboratoires incluent dans leurs procédures analytiques les composés cibles adéquats pour s'assurer que la fenêtre de détection de la *substance interdite* soit la plus étendue possible.

Tableau 1. NMPR pour la détection de substances sans seuil dans les urines humaines

| Classe de substances interdites | Exemples/exceptions spécifiques | NMPR ^(a) |
|--|--|---------------------|
| S0. Substances non approuvées | AOD9604 ⁽¹⁾ | 2 ng/mL |
| S1.1a Stéroïdes anabolisants androgéniques exogènes (SAA) | | 5 ng/mL |
| | Déhydrochlorméthyltestostérone | 2 ng/mL |
| | Métandiénone | 2 ng/mL |
| | 17 α -Méthyltestostérone | 2 ng/mL |
| | Stanozolol | 2 ng/mL |
| S1.2. Autres agents anabolisants | | 2 ng/mL |
| | Clenbutérol | 0.2 ng/mL |
| S2.2. Stabilisateurs de facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF) | Roxadustat (FG-4592) Molidustat | 2 ng/mL |
| S2.3. Facteurs de libération de l'hormone gonadotrophine (GnRH)⁽¹⁾ | Busérelīne, gonadoréline, leuproréline, triptoréline, gosélerīne, narfaréline, desloréline | 2 ng/mL |
| S2.5 Facteurs de libération de l'hormone de croissance (GH) : | | |
| • Hormone libérant l'hormone de croissance (GHRH) et ses analogues | Sermoréline, tesamoréline, CJC-1295, CJC-1293 | 1 ng/mL |
| • Secrétagogues de la GH (GHS) ⁽¹⁾ | Anamoréline, ipamoréline, tabimoréline | 2 ng/mL |
| • Peptides libérant la GH (GHRP) ⁽¹⁾ | Alexamoréline, GHRP-1, -2, -3, -4, -5 et -6, hexaréline | 2 ng/mL |
| • Autres facteurs de croissance | TB-500 (N-Ac LKKTETQ) ⁽¹⁾ | 2 ng/mL |
| S3. Béta-2 agonistes^(b) | | 20 ng/mL |
| | Inhibiteurs d'aromatase, SERM, et autres substances anti-œstrogéniques | 20 ng/mL |
| S4. Modulateurs hormonaux et métaboliques | Formestane ^(c) | 50 ng/mL |
| | Meldonium | 200 ng/mL |
| | Insulines | 50 pg/mL |

Document technique de l'AMA – TD2017MRPL-FR

| | | | |
|---------------|--|----------------------------|--------------------------------|
| Document n° : | TD2017MRPL-FR | Version n° : | 1.0 |
| Rédaction : | Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA | Approuvé par : | Comité exécutif de l'AMA |
| Date : | 17 mai 2017 | Date d'entrée en vigueur : | 1 ^{er} septembre 2017 |

| | | |
|--|--|-------------|
| S5. Diurétiques et agents masquants^(d) | | 200 ng /mL |
| | Desmopressine et analogues ⁽ⁱ⁾ | 2 ng/mL |
| S6. Stimulants^(e) | | 100 ng /mL |
| | Octopamine | 1000 ng /mL |
| S7. Narcotiques^(f) | | 50 ng /mL |
| | Buprénorphine | 5 ng/mL |
| | Fentanyl (et ses dérivés) | 2 ng/mL |
| S8. Cannabimimétiques^(g) | | 1 ng/mL |
| S9. Glucocorticoïdes | | 30 ng/mL |
| | Budésonide (6-β-hydroxy-budésonide) ^(h) | 30 ng/mL |
| P2. Béta-bloquants | | 100 ng /mL |

(a) Dans chaque cas, le NMPR s'applique au composé parent ou *métabolite(s)* ou *marqueur(s)* approprié(s) selon les voies de biotransformation, le profil d'excrétion et/ou la stabilité dans la matrice de l'*échantillon* de chaque substance.

(b) Le salbutamol et le formotérol sont considérés comme des substances à seuil ; par conséquent, leurs déterminations et rapports sont couverts par le Document technique sur les limites de décision (TDDL)¹. Lorsque détectés en conjonction avec un diurétique interdit ou tout autre agent masquant, le NMPR de 20 ng/mL établi pour les bêta-2 agonistes est applicable.

La façon de rapporter le salmétérol et l'higénamine est décrite dans la section 4.0 de ce document technique.

(c) Une analyse GC-C-IRMS doit être effectuée avant de rapporter un *résultat d'analyse anormal* pour les *échantillons* contenant du formestane à un niveau situé entre 50 ng/mL et 150 ng/mL (après ajustement pour la gravité spécifique de l'*échantillon* lorsque la GS > 1,020). Se reporter au Document technique sur le GC-C-IRMS³.

(d) Le glycérol est considéré comme une substance à seuil ; par conséquent, sa détermination et la façon de le rapporter sont couvertes par le Document technique sur les limites de décision (TDDL)¹.

(e) La cathine, l'éphédrine, la méthyléphédrine et la pseudoéphédrine sont considérées comme des substances à seuil ; par conséquent, leur détermination et la façon de les rapporter sont couvertes par le Document technique sur les limites de décision (TDDL)¹. Lorsque détectées en conjonction avec un diurétique interdit ou autre agent masquant, la limite de rapport établie pour les stimulants (par exemple 50 ng/mL – voir la section 4.0 de ce document technique) devrait être appliquée.

(f) La morphine est considérée comme une substance à seuil ; par conséquent, sa détermination et la façon de la rapporter sont couvertes par le Document technique sur les limites de décision (TDDL)¹.

(g) L'acide 11-nor-Δ9-tétrahydrocannabinol-9-carboxylique (carboxy-THC) est considéré comme une substance à seuil ; par conséquent, sa détermination et la façon de le rapporter sont couvertes par le Document technique sur les limites de décision (TDDL)¹.

³ Document technique TDIRMS de l'AMA: détection des formes synthétiques des stéroïdes anabolisants androgéniques endogènes par GC-C-IRMS.

<https://www.wada-ama.org/fr/nos-activites/science-et-medecine/laboratoires>

Document technique de l'AMA – TD2017MRPL-FR

| | | | |
|---------------|--|----------------------------|--------------------------------|
| Document n° : | TD2017MRPL-FR | Version n° : | 1.0 |
| Rédaction : | Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA | Approuvé par : | Comité exécutif de l'AMA |
| Date : | 17 mai 2017 | Date d'entrée en vigueur : | 1 ^{er} septembre 2017 |

^(h) Pour la détection du budésonide par des voies systémiques, les laboratoires cibleront la détection du métabolite du budésonide hydroxylé à la position 6-β⁴.

⁽ⁱ⁾ Tous les laboratoires doivent avoir la capacité analytique de tester les petits peptides, incluant GHSs, GHRPs, GnRHs, TB-500, AOD9604, la desmopressine, etc. Cependant, les autorités de contrôle devraient être avisées que l'analyse de ces substances pourrait ne pas faire partie de la liste des analyses de routine menées par le laboratoire, et, par conséquent, si l'analyse de ces substances est requise, elle devrait être demandée soit sur le formulaire de la chaîne de possession interne du laboratoire de l'échantillon, en communiquant directement avec le laboratoire or par un accord préalable entre le laboratoire et l'autorité de contrôle.

2.0 Limite de détection (LDET) de la procédure d'analyse initiale

La validation par le laboratoire des méthodes de procédure d'analyse initiale doit inclure l'estimation de la LDET pour chaque substance sans seuil ou son (ses) métabolite(s) cible(s) ou marqueur(s) représentatif(s) à l'aide du matériel de référence approprié, s'il est disponible. Il n'est pas nécessaire d'estimer la LDET pour tous les métabolites éventuels d'une substance sans seuil donnée. La LDET estimée ne doit pas être supérieure à 50% du NMPR. En l'absence d'un matériel de référence approprié pour une substance sans seuil spécifique ou son (ses) métabolite(s) ou marqueur(s) représentatif(s), la LDET sera présumée similaire à celle d'une substance interdite apparentée de la même classe.

Pour la détection de substances sans seuil par des méthodes utilisant la chromatographie et la spectrométrie de masse, la LDET est exprimée en tant que concentration minimum de l'analyte qui peut être détectée avec une certitude raisonnable dans les urines. L'estimation de la LDET peut être basée sur le rapport signal/bruit (S/B), qui peut être obtenu en comparant les signaux mesurés à partir d'échantillons contenant de basses concentrations connues d'analyte avec ceux d'échantillons blancs. Un rapport S/B de 3 est généralement considéré comme acceptable. Toutefois, d'autres procédures largement reconnues peuvent être mises en œuvre (par exemple, données de répétabilité du signal lorsque l'HRMS est utilisée).

3.0 Procédure de confirmation

Le laboratoire doit documenter le fait que les procédures de confirmation pour les substances sans seuil permettent l'identification de chaque substance sans seuil ou de son (ses) métabolite(s) cible(s) ou marqueur(s) représentatif(s) (en conformité avec le Document technique sur les critères minimaux pour la confirmation par chromatographie-spectrométrie de masse de l'identité des analytes, TD IDCR⁵) au NMPR ou plus bas.

⁴ X. Matabosch, O.J. Pozo, C. Pérez-Mña, M. Farré, J. Marcos, J. Segura, R. Ventura. Discrimination of prohibited oral use from authorized inhaled treatment of budesonide in sports. *Therapeutic Drug Monitoring* **35**(1):118-128, 2013.

⁵ Document technique TDIDCR de l'AMA : critères minimaux de confirmation par chromatographie-spectrométrie de masse de l'identité des analytes à des fins de contrôle du dopage.
<https://www.wada-ama.org/fr/nos-activites/science-et-medecine/laboratoires>

Document technique de l'AMA – TD2017MRPL-FR

| | | | |
|---------------|--|----------------------------|--------------------------------|
| Document n° : | TD2017MRPL-FR | Version n° : | 1.0 |
| Rédaction : | Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA | Approuvé par : | Comité exécutif de l'AMA |
| Date : | 17 mai 2017 | Date d'entrée en vigueur : | 1 ^{er} septembre 2017 |

4.0 Rapports des substances sans seuil

Une identification confirmée d'une substance sans seuil à toute concentration doit être rapportée comme *résultat d'analyse anormal*, sauf dans les cas suivants :

- Les substances sans seuil des classes S6, S7, S8 et P2, qui sont interdites seulement *en compétition*, ne devraient pas être rapportées en dessous de 50% du NMPR⁶ ;
- Le salmétérol et l'higénamine ne devrait pas être rapportés à des niveaux inférieurs à 10 ng/mL (soit 50% du NMPR pour les béta-2 agonistes)⁷ ;
- Le meldonium ne devrait pas être rapporté à des niveaux inférieurs à 100 ng/mL ;
- L'octopamine ne devrait pas être rapportée à des niveaux inférieurs au NMPR de 1000 ng/mL ;
- Les glucocorticoïdes ne devraient pas être rapportés à des niveaux inférieurs au NMPR de 30 ng/mL.

⁶ Les limites de rapport spécifiées pour les substances sans seuil des classes S6, S7, S8, S9 and P2 s'appliquent soit au composé parent ou à ses *métabolites(s)*, selon le métabolisme de la substance et son profil d'excrétion (à moins que spécifié différemment dans ce document technique). Les limites de rapport ne doivent pas s'appliquer à la somme des concentrations des différentes espèces moléculaires (par exemple, composé parent et *métabolites(s)* ou différents *métabolites*).

⁷ Les limites de rapport spécifiées pour le salmétérol et l'higénamine s'appliquent pour la détermination du composé parent.