

Document n° :	TD2018MRPL-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	15 novembre 2018	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} janvier 2018

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 TD DL¹, TD GH²).
- 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

¹ Document technique TD DL 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 TD GH 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 – TD2018MRPL-FR

Document n° :	TD2018MRPL-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	15 novembre 2018	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} janvier 2018

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*.
- 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 l'urine humaine

Classe de substances interdites	Exemples/exceptions spécifiques	<u>NMPR</u> ^(a)	
S1.1a Stéroïdes anabolisants androgéniques exogènes (SAA)		5 ng/mL	
	Déhydrochlorométhyltestostérone	2 ng/mL	
	Métandiénone	2 ng/mL	
	17 α -Méthyltestostérone	2 ng/mL	
	Stanozolol	2 ng/mL	
S1.1b SAA endogènes administrés de manière exogène	19-norandrostérone (19-NA) ^(b) 19-norétiocholanolone (19-NE) ^(b)	2 ng/mL	
	Boldénone ^(c)	5 ng/mL	
S1.2. Autres agents anabolisants		2 ng/mL	
	Clenbutérol	0.2 ng/mL	
S2.1.2. Agents activants du facteur inductible par l'hypoxie (HIF)	Molidustat Roxadustat (FG-4592)	2 ng/mL	
S2.2.1. Facteurs de libération de la gonadotrophine (CG/LH)^(d)	Busérelïne, desloréline, gonadoréline, gosélérine, leuproréline, narfaréline, triptoréline	2 ng/mL	
S2.2.3 Hormone de croissance (GH), ses fragments et ses facteurs de libération :	<ul style="list-style-type: none"> • Fragments de GH^(d) 	AOD9604, hGH 176-191	2 ng/mL
	<ul style="list-style-type: none"> • Hormone libérant l'hormone de croissance (GHRH) et ses analogues 	CJC-1295, CJC-1293, sermoréline, tesamoréline	1 ng/mL
	<ul style="list-style-type: none"> • Secrétagogues de la GH (GHS)^(d) 	Anamoréline, ipamoréline, tabimoréline	2 ng/mL
	<ul style="list-style-type: none"> • Peptides libérant la GH (GHRP)^(d) 	Alexamoréline, GHRP-1, -2, -3, -4, -5 et -6, hexaréline	2 ng/mL

Document technique de l'AMA – TD2018MRPL-FR

Document n° :	TD2018MRPL-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	15 novembre 2018	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} janvier 2018

S2.3 Facteurs de croissance et modulateurs des facteurs de croissance	TB-500 (N-Ac LKKTETQ) ^(d)	2 ng/mL
S3. Béta-2 agonistes^(e)		20 ng/mL
S4. Modulateurs hormonaux et métaboliques	Inhibiteurs d'aromatase, SERM et autres substances anti-œstrogéniques	20 ng/mL
	Formestane ^(f)	50 ng/mL
	Meldonium	200 ng/mL
	Insulines	50 pg/mL
S5. Diurétiques et agents masquants		200 ng /mL
	Desmopressine et analogues ^(d)	2 ng/mL
S6. Stimulants^(g)		100 ng /mL
	Octopamine	1000 ng /mL
S7. Narcotiques^(h)		50 ng /mL
	Buprénorphine	5 ng/mL
	Fentanyl (et ses dérivés)	2 ng/mL
S8. Cannabimimétiques⁽ⁱ⁾		1 ng/mL
S9. Glucocorticoïdes		30 ng/mL
	Budésonide (6-β-hydroxy-budésonide) ^(j)	30 ng/mL
P1. Béta-bloquants		100 ng /mL

(a) Dans chaque cas, le NMPR s'applique au composé parent ou au(x) *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) La détection et la façon de rapporter les résultats pour les 19-norstéroïdes sont couverts par le Document technique sur la 19-NA (TD NA)³.

(c) Une analyse GC/C/IRMS doit être effectuée avant de rapporter un *résultat d'analyse anormal* pour les *échantillons* contenant du boldénone et/ou ses *métabolites* à un niveau situé entre 5 ng/mL et 30 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/IRMS⁴.

(d) Tous les laboratoires doivent avoir la capacité analytique de tester les petits peptides, incluant GHSs, GHRPs, les facteurs de libération de la gonadotropine, TB-500, AOD9604, la desmopressine, etc.

³ Document technique TD NA de l'AMA.

Harmonisation de l'analyse et des rapports relatifs aux 19-norstéroïdes apparentés à la nandrolone.

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

⁴ Document technique TD IRMS 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 – TD2018MRPL-FR

Document n° :	TD2018MRPL-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	15 novembre 2018	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} janvier 2018

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, soit par un accord préalable entre le laboratoire et l'autorité de contrôle. Cependant, les laboratoires doivent appliquer l'analyse pour les facteurs de libération de la gonadotrophine à titre de procédure de confirmation pour des résultats de LH élevés (se reporter au TD CG/LH⁵).

(e) Le salbutamol et le formotérol sont considérés comme des substances à seuil ; par conséquent, leurs déterminations et leurs rapports sont couverts par le Document technique sur les limites de décision (TD DL)¹. Lorsque détectés en conjonction avec un diurétique interdit ou tout autre agent masquant, ces substances doivent être rapportées comme un résultat d'analyse anormal à quelque concentration que ce soit.

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

(f) 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/IRMS⁴.

(g) 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 (TD DL)¹. Lorsque détectées en conjonction avec un diurétique interdit ou autre agent masquant, la limite de rapport établie pour les stimulants (à savoir 50 ng/mL – voir la section 4.0 de ce Document technique) devrait être appliquée.

(h) 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 (TD DL)¹.

(i) L'acide 11-nor- Δ^9 -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 (TD DL)¹.

(j) Pour la détection de l'administration de budésonide par des voies systémiques, les laboratoires doivent cibler la détection de son métabolite 6 β -hydroxylé⁶.

⁵ Document technique TD CG/LH de l'AMA. Rapport et gestion des résultats de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) urinaire et de l'hormone lutéinisante (LH) chez les sportifs de sexe masculin. <https://www.wada-ama.org/fr/nos-activites/science-et-medecine/laboratoires>

⁶ 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.

Document technique de l'AMA – TD2018MRPL-FR

Document n° :	TD2018MRPL-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	15 novembre 2018	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} janvier 2018

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

La validation par le laboratoire des méthodes de procédure d'analyse initiale doit inclure l'estimation de la LD 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 LD pour tous les *métabolites* éventuels d'une substance sans seuil donnée. La LD 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 LD 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 LD 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 LD 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 la spectrométrie de masse haute résolution 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 IDCR⁷) au NMPR ou plus bas.

⁷ Document technique TD IDCR 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 – TD2018MRPL-FR

Document n° :	TD2018MRPL-FR	Version n° :	1.0
Rédaction :	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par :	Comité exécutif de l'AMA
Date :	15 novembre 2018	Date d'entrée en vigueur :	1 ^{er} janvier 2018

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 P1, qui sont interdites seulement *en compétition*, ne devraient pas être rapportées en dessous de 50% du NMPR⁸.
- Les glucocorticoïdes (S9) ne devraient pas être rapportés en dessous du NMPR de 30 ng/mL.
- 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)⁹.
- Le meldonium ne devrait pas être rapporté à des niveaux inférieurs à 100 ng/mL (soit 50% du NMPR).
- L'octopamine ne devrait pas être rapportée à des niveaux inférieurs au NMPR de 1000 ng/mL¹⁰.

⁸ Les limites de rapport spécifiées pour les substances sans seuil des classes S6, S7, S8, S9 et P1 s'appliquent soit au composé parent ou à ses *métabolites(s)* spécifique(s), selon le métabolisme de la substance et son profil d'excrétion (à moins que spécifié différemment dans ce Document technique). Ces limites de rapport ne doivent pas s'appliquer à la somme des concentrations des différentes espèces moléculaires [par exemple, composé parent et *métabolites(s)* de phase I ou différents *métabolites* de phase I]. En revanche, lorsque la méthode utilisée inclut la détermination des *métabolites* de phase II de la substance cible spécifique (par ex. glucuronides, sulfates), la limite de rapport s'applique au contenu total de la substance libre et conjuguée (à savoir le composé parent et ses *métabolites* de phase II). Ce total est obtenu soit par la détermination séparée de l'espèce moléculaire (par ex. par analyse LC-MS), soit après hydrolyse de(s) *métabolite(s)* de phase II (par ex. pour l'analyse GC-MS), et sera exprimé en tant que concentration équivalente du composé parent.

⁹ Les limites de rapport spécifiées pour le salmétérol et l'higénamine s'appliquent uniquement pour la détermination du composé parent libre.

¹⁰ La limite de rapport spécifiée pour l'octopamine s'applique à la somme du composé parent et de son *métabolite* sulfate de phase II (exprimé en tant que concentration équivalente du composé parent).