

DOCUMENT D'APPUI

FOIRE AUX QUESTIONS (FAQ) relative au document technique sur le contrôle du dopage à partir de gouttes de sang séché (GSS) (TD2021DBS)¹

1. Qu'est-ce qu'un échantillon de GSS ?

Un échantillon de GSS est une série de petits volumes (gouttes) de sang capillaire prélevés par ponction/incision de la peau pour accéder aux capillaires (petits vaisseaux sanguins), que l'on applique et que l'on laisse sécher sur un support d'échantillon absorbant.

Des techniques d'échantillonnage similaires qui prélèvent du sang capillaire pour analyse sans étape de séchage, souvent simplement appelées micro-échantillonnage capillaire, n'entrent pas dans le champ d'application du TD DBS.

2. L'échantillonnage de GSS est-il nouveau ?

L'échantillonnage et l'analyse de GSS est une méthode introduite en 1963 pour dépister la phénylcétonurie chez les nouveau-nés. Depuis lors, son utilisation a été étendue au dépistage d'autres troubles du métabolisme ainsi qu'à d'autres champs d'application tels que le suivi thérapeutique des médicaments et les études pharmacocinétiques.

Dans le domaine de la lutte contre le dopage, les analyses de GSS font l'objet de recherches de la part des laboratoires accrédités par l'AMA depuis 2000, et plus récemment de la part de plusieurs organisations antidopage (OAD) qui ont aidé à développer une base solide pour l'utilisation de GSS pour le contrôle du dopage.

3. Quels sont les avantages des échantillons de GSS pour les analyses du contrôle du dopage ?

- Le prélèvement d'échantillons de GSS est moins intrusif que les procédures de prélèvement d'urine et moins invasif que les procédures actuelles de prélèvement de sang impliquant une ponction veineuse.
- Le prélèvement d'échantillons de GSS peut se faire en quelques minutes², ce qui permet de sélectionner pour des contrôles un grand nombre de sportifs dans un seul et même lieu, et ainsi accroît la détection et la valeur dissuasive des contrôles antidopage.

¹ La FAQ relative au TD2021DBS est un document d'appui destiné à aider les laboratoires et les OAD à mettre en œuvre le TD2021DBS. Lorsque l'interprétation d'un texte quelconque de la FAQ est en contradiction avec le TD2021DBS, le TD2021DBS prime.

² Données non publiées : Solheim SA, Ringsted TK, Andersen AB, Nordborg N, Dehnes Y, Mørkeberg JS. What is the athletes' preferred Dried Blood Spot (DBS) sampling site? Athletes' and DCOs' feedback.

- En fonction du type de dispositif de prélèvement retenu et des réglementations locales, le prélèvement d'échantillons de GSS ne nécessite pas la présence d'un phlébotomiste.
- Les échantillons de GSS sont plus stables que les échantillons traditionnels de sang et d'urine dans les conditions de transport et de conservation des échantillons utilisées dans la lutte contre le dopage.
 - o Le transport n'a pas besoin de se faire dans des conditions réfrigérées (sauf si les échantillons sont exposés à des variations extrêmes de température). Par rapport aux exigences de transport actuelles des échantillons de sang traditionnels, les échantillons de GSS peuvent donc être transportés à moindre frais. Cela permet également des contrôles dans des endroits reculés où le prélèvement et le transport d'un échantillon de sang traditionnel peuvent s'avérer difficiles.
 - o Une analyse spécifique peut être effectuée pour certaines substances interdites ou sous-classes de substances interdites, par ex. les esters stéroïdiens, qui, sinon, pourraient se dégrader plus rapidement dans d'autres types d'échantillons.
- La conservation des échantillons de GSS ne nécessite que peu de place et peut donc diminuer le coût de la conservation à long terme par rapport aux autres types d'échantillons.

4. Quel est le but du TD DBS ?

Le TD DBS vise à harmoniser les contrôles à partir de GSS en prévoyant des exigences et des procédures spécifiques relatives au prélèvement, au transport, à l'analyse et à la conservation des échantillons de GSS. Il est prévu que le TD DBS entre en vigueur au 1^{er} septembre 2021.

Par définition, les échantillons de GSS sont des échantillons sanguins, et constituent donc une matrice biologique approuvée dans les contrôles anti-dopage. Par conséquent, les exigences pertinentes applicables au prélèvement, au transport, à l'analyse et à la conservation d'échantillons de sang telles que décrites dans le Standard international pour les contrôles et les enquêtes (SICE) et dans le Standard international pour les laboratoires (SIL) doivent être observées, sauf disposition contraire du TD DBS.

5. Quelles sont les substances interdites qui relèvent du champ d'application du TD DBS ?

Le présent document technique couvre spécifiquement les exigences relatives à la validation des procédures d'analyse à appliquer aux échantillons de GSS uniquement pour la détection de substances sans seuil sans niveaux minimum de rapport (NMR). Les exigences relatives à l'analyse des substances à seuil et des substances sans seuil avec

NMR feront l'objet d'autres documents ou de version(s) révisée(s) du/des document(s) technique(s) applicable(s).

L'application du prélèvement des échantillons de GSS à l'analyse de substances sans seuil soumises à un NMR ou de substances à seuil devrait être abordée dans des versions ultérieures du TD DBS (ou d'autres documents pertinents) à la suite du développement/ de la validation des méthodes et de la définition des exigences relatives à la réalisation des méthodes et au rendu des résultats sur les substances. Par exemple, l'effet du niveau d'hématocrite (c'est-à-dire de la proportion de globules rouges dans le sang) reste l'un des principaux problèmes à surmonter. De fait, il est connu que les variations de l'hématocrite ont une incidence sur la superficie des gouttes de sang déposées (c'est-à-dire que le sang présentant un faible taux d'hématocrite s'étale généralement davantage sur le support d'échantillon de GSS absorbant que le sang présentant un taux d'hématocrite élevé), mais peuvent également entraîner des variations dans la récupération des analytes, entre autres. Ce facteur devrait être convenablement contrôlé pour une quantification précise des substances à seuil.

6. Les échantillons de GSS peuvent-ils complètement remplacer le prélèvement et l'analyse d'urine et d'autres échantillons de sang ?

Non. Dans l'état actuel des choses, les échantillons de GSS ne peuvent s'appliquer qu'aux procédures analytiques pour la détection de substances sans seuil sans NMR, ce qui limite le nombre et le type d'analyses. Le prélèvement d'échantillons traditionnels d'urine et de sang reste nécessaire pour une analyse complète de l'intégralité du menu des substances interdites et des méthodes interdites.

7. Quels sont les laboratoires capables d'analyser des échantillons de GSS ?

L'analyse des échantillons de GSS doit être effectuée dans les laboratoires accrédités par l'AMA. Toutefois, pour l'instant, tous les laboratoires accrédités par l'AMA ne sont pas dans l'obligation de procéder à l'analyse d'échantillons de GSS. La liste des laboratoires accrédités par l'AMA pertinents sera disponible dans ADAMS. Les autorités de contrôle sont encouragées à contacter les laboratoires accrédités par l'AMA pour obtenir des conseils.

Les laboratoires pour le Passeport biologique de l'athlète (PBA) effectuent uniquement des analyses PBA des échantillons sanguins, et à ce titre n'ont pas nécessairement l'expertise spécifique ou les équipements pour procéder à l'analyse d'échantillons de GSS (par ex. pour des méthodes d'analyse par chromatographie-spectrométrie de masse).

8. Les laboratoires peuvent-ils appliquer la flexibilité de la portée de l'accréditation ISO/CEI 17025 à l'analyse d'échantillons de GSS ?

Non, les procédures analytiques validées pour une matrice d'échantillons donnée (par ex. urine, plasma) doivent être revalidées lorsqu'elles sont utilisées pour les échantillons de

GSS de sang capillaire. Toutefois, lorsqu'une procédure analytique appliquée à des échantillons de GSS a été incluse dans la portée de l'accréditation ISO/CEI 17025 du laboratoire, la flexibilité peut être appliquée conformément aux principes indiqués dans le SIL et l'ILAC-G29/06:2020 *Guidelines for harmonization of scopes of ISO/IEC 17025 accreditation of WADA anti-doping laboratories* [Directives pour l'harmonisation des champs d'application de l'accréditation ISO/CEI 17025 des laboratoires antidopage de l'AMA].

9. Comment faut-il utiliser les résultats des analyses de GSS ?

Les résultats des analyses de GSS doivent être rapportés dans ADAMS comme décrit à l'article 5.3.8.4 du SIL et être gérés de la même manière que les résultats d'analyses provenant d'autres types d'échantillons. L'autorité de gestion des résultats procédera à la gestion des résultats pour une violation potentielle des règles antidopage si le résultat de l'échantillon de GSS est rapporté comme un résultat d'analyse anormal. Aucun élément de preuve basé sur l'analyse d'échantillons d'urine et/ou de sang complet/de sérum/de plasma n'est requis pour confirmer les résultats.

Les résultats des analyses de GSS peuvent également aider à cibler certains types spécifiques d'analyses pour certaines substances interdites et/ou méthodes interdites, servir à des contrôles ciblés et à d'autres stratégies de contrôle et renseignements, soutenir d'autres violations des règles antidopage et/ou étayer des demandes d'analyse additionnelle d'échantillons conservés.

10. Les autorités de contrôle sont-elles dans l'obligation de réaliser des contrôles à partir de GSS ?

Non, les contrôles à partir de GSS ne sont pas obligatoires. À l'heure actuelle, l'objectif est de faire adopter les contrôles à partir de GSS de manière harmonisée, et non de manière universelle. Avec le temps et lorsque le menu d'analyse des échantillons de GSS aura été étendu, l'expérience des autorités de contrôle aidera à optimiser la planification des analyses de GSS et à définir de nouvelles stratégies de contrôles de GSS au niveau mondial.

11. À qui incombe le prélèvement des échantillons de GSS ?

En raison de l'absence de ponction veineuse lors du prélèvement de GSS, de nombreuses juridictions autorisent que les échantillons de GSS soient prélevés par un agent de contrôle du dopage (ACD) sans que la présence d'un agent de prélèvement sanguin (APS) ne soit nécessaire, du moment que les précautions standard reconnues en matière de soins de santé soient respectées et que l'ACD soit convenablement et suffisamment formé. Les procédures de prélèvement des échantillons de GSS et de qualification du personnel chargé de prélever les échantillons de GSS doivent être conformes au TD DBS ainsi qu'aux normes locales et aux exigences réglementaires.

En raison des exigences de formation spécifiques pour le prélèvement réussi d'échantillons de GSS, les sportifs ne sont pas autorisés à prélever leurs propres échantillons, mais peuvent y contribuer, par exemple en appuyant sur le bouton lorsqu'un dispositif à micro-aiguille(s)/micro-lancette(s) intégrées est utilisé, en suivant les instructions de l'ACD/APS.

12. De quelle manière les échantillons de GSS sont-ils prélevés et quel type de dispositif de prélèvement d'échantillons de GSS peut être utilisé ?

Il existe deux catégories principales d'équipement de prélèvement d'échantillons de GSS :

- 1) Les cartes à base de cellulose (ou autres supports d'échantillons absorbants en cellulose), utilisés en association avec des lancettes, servent à prélever l'échantillon de GSS à partir de l'extrémité du doigt.

La goutte de sang venant de la ponction/incision peut ensuite être déposée sans contact directement sur la carte en cellulose ou bien des capillaires non traités peuvent servir au transfert de sang capillaire sur le support d'échantillons absorbant. L'utilisation de tubes capillaires est autorisée, mais ne devrait pas être encouragée. En tout état de cause, il est important de n'utiliser que des tubes capillaires non traités et ne contenant pas d'anticoagulants.

- 2) Les dispositifs à micro-aiguille(s)/micro-lancette(s) intégrée(s) servent à prélever les échantillons de GSS dans la partie supérieure du bras.

Les dispositifs de prélèvement des échantillons de GSS à micro-aiguille(s)/micro-lancette(s) intégrée(s) devraient permettre le prélèvement et le dépôt direct du sang capillaire sur le support d'échantillons absorbant sans manipulation physique (c'est-à-dire sans pipette ni autre dispositif spécialisé pour la manipulation de liquides).

D'autres sites de ponction appropriés, tels que le lobe de l'oreille ou l'abdomen, peuvent être utilisés, si nécessaire, pour les sportifs présentant un handicap physique. Cependant, il est recommandé de contacter les fabricants d'équipements pour obtenir des informations sur la performance des dispositifs disponibles sur des sites de ponction alternatifs.

Il incombe aux OAD de choisir le type d'équipement de prélèvement des échantillons après consultation avec les laboratoires accrédités par l'AMA. Cependant, en raison des variations législatives et réglementaires applicables à l'importation et à l'utilisation de dispositifs de prélèvement de GSS, l'autorité de prélèvement des échantillons doit vérifier que l'équipement de prélèvement des échantillons utilisé est conforme aux exigences réglementaires locales pour les dispositifs médicaux, le cas échéant, ainsi qu'à toute autre législation ou réglementation applicable.

13. Quel est le volume minimum de sang qui doit être prélevé ?

Le support absorbant des échantillons « A » et « B » doit permettre le dépôt de gouttes de sang « A » et « B » distinctes pour un total d'au moins 60 µL, y compris un total d'environ 40 µL de sang capillaire dans la(les) goutte(s) de sang « A » déposée et un total d'environ 20 µL de sang capillaire dans la(les) goutte(s) de sang « B » déposée. Dans l'idéal, un total d'au moins environ 100 µL (3 « A » et 2 « B ») devrait être prélevé.

En principe, un volume de 20 µL est suffisant pour la procédure d'analyse par chromatographie-spectrométrie de masse (actuellement, les essais de liaison par affinité et les méthodes d'électrophorèse ne tombent pas dans le champ d'application du TD2021DBS). C'est pourquoi un volume d'au moins 40 µL pour l'échantillon « A » permet d'effectuer la procédure analytique initiale et la procédure de confirmation, le cas échéant, alors que le volume minimum requis pour effectuer la procédure de confirmation sur le « B » est de 20 µL pour l'échantillon « B ».

Lorsque des échantillons de GSS sont prélevés par piqûre au doigt et que la goutte de sang est directement appliquée sur la carte en cellulose, le volume exact déposé n'est pas connu. En règle générale, un volume de goutte de 20 à 70 µL est généré si l'on prélève des gouttes de sang capillaire en les laissant tomber sur la carte en cellulose, alors que le volume prélevé est de 15 à 50 µL si une goutte suspendue est mise directement en contact avec la carte en cellulose³. Le doigt ne doit pas toucher la carte en cellulose et les gouttes ultérieures ne doivent pas être déposées en couche l'une sur l'autre, mais chaque nouvelle goutte doit être déposée dans un nouveau cercle délimité sur la carte⁴.

14. Comment les autorités de contrôle devraient-elles notifier les laboratoires sur le type d'analyse qu'elles demandent sur un échantillon de GSS ?

Les autorités de contrôle doivent veiller à ce que le(s) type(s) d'analyse requis pour chaque échantillon de GSS soi(en)t consigné(s) au minimum dans la documentation de chaîne de possession (ou son équivalent) expédiée avec les échantillons au laboratoire ou par le biais d'un autre système convenu entre l'autorité de contrôle et le laboratoire. Cela exige que des instructions claires soient données à l'ACD autorisé à prélever l(es) échantillon(s) de GSS.

15. Comment les échantillons de GSS devraient-ils être transportés ?

Les échantillons de GSS étant généralement stables, ils peuvent être transportés à température ambiante et la réfrigération n'est pas nécessaire. En revanche, si l'autorité de prélèvement des échantillons prélève des échantillons sanguins traditionnels lors de la

³ Capiou S, Veenhof H, Koster RA, et al. Official International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Guideline: Development and Validation of Dried Blood Spot-Based Methods for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit.* 2019;41(4):409-430. doi:10.1097/FTD.0000000000000643

⁴ WHO manual for HIV drug resistance testing using dried blood spot specimens, 3^e édition. Genève: Organisation mondiale de la santé; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

même phase de prélèvement des échantillons, les échantillons de GSS peuvent être expédiés dans les conditions réfrigérées avec les échantillons sanguins. En tout état de cause, des variations extrêmes de température doivent être évitées.

Comme les échantillons traditionnels d'urine et de sang, les échantillons de GSS sont sensibles à l'exposition à la lumière et devraient donc être transportés dans une boîte/un sac non transparent.

16. Une autorité de contrôle peut-elle conserver un échantillon de GSS à long terme sans analyser l'échantillon prélevé avant une date ultérieure ?

Non. Conformément au SIL, tous les échantillons reçus au laboratoire doivent être analysés (dans le cas des échantillons de GSS, pour au moins une substance interdite ou une méthode interdite) sauf s'il existe des irrégularités valides et documentées justifiant de les rejeter. Ensuite, les échantillons peuvent être conservés pour analyse additionnelle pendant une durée maximale de 10 ans.