

# Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

## Détection des formes synthétiques des stéroïdes anabolisants androgéniques endogènes par GC-C-IRMS

### 1.0 Introduction

Le présent Document technique décrit la méthode d'analyse permettant de détecter les formes synthétiques de stéroïdes anabolisants androgéniques endogènes (SAAE) par chromatographie gazeuse – combustion – spectrométrie de masse des rapports isotopiques (GC-C-IRMS) dans les *échantillons* d'urine.

Il prend également en considération le boldénone, les *métabolites* du boldénone et le formestane<sup>1</sup>, qui peuvent se trouver naturellement à faibles concentrations dans des *échantillons* d'urine.

La 19-norandrostérone (19-NA) et la 19-norétiocholanolone (19-NE) sont traitées dans un Document technique distinct, TD19NA [1] et les recommandations techniques et exigences décrites dans le présent document ne s'appliquent pas à leur analyse.

#### 1.1 Application de la GC-C-IRMS

##### 1.1.1 Analyse GC-C-IRMS en tant que procédure de confirmation pour l'administration exogène de SAAE

Les analyses par GC-C-IRMS doivent être réalisées à titre de procédure de confirmation lorsque le laboratoire reçoit une « demande de procédure de confirmation pour *résultat de passeport atypique (RPA)* » ou une « demande de procédure de confirmation pour profil stéroïdien suspect (PSS) » par le biais d'ADAMS, comme le décrit le Document technique sur les mesures et les rapports de SAAE (TDEAAS) [2].

En outre, une analyse par GC-C-IRMS peut être demandée sur tout *échantillon* d'urine par l'autorité de contrôle, l'unité de gestion du passeport

---

<sup>1</sup> Le formestane (4-hydroxyandrost-4-en-3,17-dione) est un inhibiteur de l'aromatase, mais sa structure est semblable aux SAAE, et on peut également le trouver naturellement dans des *échantillons* d'urine; il exige donc une approche d'analyse semblable à celle décrite dans le document TDEAAS [2].

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

de l'athlète (UGPA), ou l'AMA, même si les *marqueurs* du « profil stéroïdien » se situent dans les plages normales.

De plus, le laboratoire peut à tout moment aviser<sup>2</sup> l'autorité de contrôle d'effectuer (ou non) des analyses par GC-C-IRMS sur la base de son expertise, par exemple en présence de tout autre *marqueur* de l'administration de SAAE tel que la 6 $\alpha$ -hydroxyandrostènedione, la 3 $\alpha$ ,5-cyclo-5 $\alpha$ -androstane-6 $\beta$ -ol-17-one, la 6 $\beta$ -hydroxyandrostérone ou la 6 $\beta$ -hydroxyépiandrostérone (sulfates), ou un ratio modifié de 7 $\beta$ -hydroxydéhydroépiandrostérone à la 16 $\alpha$ -hydroxyandrostérone (sulfates).

### 1.1.2 Analyse par GC-C-IRMS pour le formestane, le boldénone ou les *métabolites* du boldénone

Dans les *échantillons* contenant du formestane, du boldénone ou un ou plusieurs *métabolite(s)* du boldénone, l'analyse par GC-C-IRMS pour ces composés sera réalisée avant de signaler un *résultat d'analyse anormal* lorsque leurs concentrations estimées ajustées à la GS<sup>3</sup> sont les suivantes:

- Concentration de formestane entre 50 ng/mL et 150 ng/mL.  
[Les résultats pour le formestane au-dessous de 50 ng/mL (ajustés à la GS<sup>3</sup>, si nécessaire) doivent être considérés comme négatifs sauf si les résultats de l'analyse GC-C-IRMS, quand elle est effectuée (selon la capacité d'analyse du laboratoire et après consultation de l'autorité de contrôle), établissent de manière concluante l'origine exogène de la substance (*résultat d'analyse anormal*).  
Les résultats pour le formestane au-dessus de 150 ng/mL (ajustés à la GS<sup>3</sup>) seront considérés comme des *résultats d'analyse anormaux*.]
- Concentration de boldénone et/ou de ses *métabolites* entre 5 ng/mL et 30 ng/mL.  
[Les résultats pour le boldénone et/ou ses *métabolites* à des concentrations estimées inférieures à 5 ng/mL (ajustés à la GS<sup>3</sup>, si nécessaire), doivent être considérés comme des *résultats atypiques*, sauf si les résultats de l'analyse GC-C-IRMS, quand elle est effectuée (selon la capacité d'analyse du laboratoire et après consultation de l'autorité de contrôle), établissent de manière concluante l'origine exogène de la substance (*résultat d'analyse anormal*).  
Les résultats pour le boldénone et/ou ses *métabolites* au-dessus de 30 ng/mL doivent être considérés comme des *résultats d'analyse anormaux* sans qu'une analyse GC-C-

<sup>2</sup> Ou selon l'accord contractuel conclu entre le laboratoire et l'autorité de contrôle.

<sup>3</sup> Si la GS de l'*échantillon* d'urine est supérieure à 1,020, les concentrations sont ajustées à une GS de 1,020 sur la base de l'équation suivante (stéroïdes glucuroconjugués libres et hydrolysés).

$$\text{Conc}_{\text{corr}} = \text{Conc}_{\text{mesurée}} * (1,020 - 1)/(GS - 1)$$

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

IRMS soit nécessaire, sauf s'il est déterminé que l'échantillon a été substantiellement dégradé par un niveau élevé de contamination microbienne (auquel cas l'échantillon sera rapporté comme un *résultat atypique*).]

Les laboratoires qui n'ont pas la capacité analytique permettant d'effectuer l'analyse par GC-C-IRMS pour le formestane et/ou le boldénone ou ses *métabolites* doivent faire analyser l'échantillon par un autre laboratoire possédant cette capacité analytique.

### 1.1.3 Procédure de confirmation de l'échantillon « B »

Lorsqu'un *résultat d'analyse anormal* est signalé pour les *marqueurs* du « profil stéroïdien » ou pour des substances sans seuil telles que le formestane, le boldénone ou les *métabolites* du boldénone sur la base des résultats d'une analyse par GC-C-IRMS effectuée sur l'échantillon « A », l'analyse par GC-C-IRMS doit également être effectuée durant la procédure de confirmation de l'échantillon « B », si cela est applicable.

## 2.0 Analyse par GC-C-IRMS

L'application de la méthode GC-C-IRMS repose sur les éléments suivants :

- la détermination de la valeur  $\delta^{13}\text{C}$  des composés cibles (CC), à savoir les *métabolites* ou *marqueurs* urinaires du « profil stéroïdien », par ex. androstérone (A), étiocholanolone (Etio), 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol (5 $\alpha$ Adiol), 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol (5 $\beta$ Adiol), testostérone (T), épitestostérone (E), et/ou les substances sans seuil, par ex. boldénone, *métabolites* du boldénone, formestane,
- la détermination de la valeur  $\delta^{13}\text{C}$  des composés de référence endogènes (CRE), par ex. prégnanediol (PD), à savoir 5 $\alpha$ -androst-16-en-3 $\alpha$ -ol (16-en), 11 $\beta$ -hydroxyandrostérone (11-OH-A), 11-kétoétiocholanolone (11-oxo-Etio), et
- le calcul de la différence des valeurs  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ , à savoir entre la valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ , le(s) CRE et le(s) CC.

L'analyse par GC-C-IRMS doit être réalisée dans une seule partie aliquote de l'échantillon.

### 2.1. Caractéristiques de la méthode GC-C-IRMS

Les laboratoires doivent mettre en œuvre dans leur méthodologie GC-C-IRMS les éléments suivants:

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

- Le système doit être calibré périodiquement par rapport à un matériel de référence certifié (MRC) stéroïdien [par ex. CU/USADA 34, CU/USADA 35, ou un autre mélange de stéroïde(s)<sup>4</sup>] qui soit traçable aux valeurs assignées du matériel de référence (MR) international reconnu. Les révisions importantes du système (par ex. changement du gaz de référence, nettoyage de la source d'ions, etc.) doivent entraîner la calibration du système.
- Dans le cadre de la validation de la méthode, le laboratoire doit déterminer :
  - la linéarité de la source d'ions à l'aide d'impulsions de CO<sub>2</sub> de hauteurs/intensités de pic différentes,
  - la linéarité de l'instrument par l'injection de différentes quantités de MR de standards stéroïdiens non dérivés ou acétylés, selon le cas (CC et CRE). La linéarité instrumentale est définie comme la plage des intensités (exprimées en mV ou nA, selon le cas) et/ou comme des montants (ng) de stéroïdes injectés qui donnent une valeur  $\delta^{13}\text{C}$  cohérente (à moins de 0,5‰ de la valeur  $\delta^{13}\text{C}$  moyenne, déterminée dans 6 à 10 hauteurs/intensités de pic différentes),
  - la limite de quantification (LQ) pour chaque CC et CRE en tant que plus faible concentration dans l'urine (ng/mL) produisant un signal mesurable dans la plage linéaire de l'instrument avec un écart-type (ET) < 1,0‰,  $n \geq 3$ ,
  - l'incertitude de mesure standard combinée estimée ( $u_c$ ) pour la détermination des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  de chaque CC et CRE. Dans chaque cas, l' $u_c$  ne doit pas dépasser 1,0‰ ( $u_{c\_Max}$ ),
  - les valeurs  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  pour chaque paire CRE-CC (y compris, au moins, A, Etio, 5 $\alpha$ Adiol, 5 $\beta$ Adiol et T en tant que CC et à l'aide d'au moins deux CRE dont l'un sera le PD) analysées dans des échantillons d'urine de volontaires et/ou des *échantillons négatifs du sportif* (au minimum 20 échantillons d'urine d'hommes et 20 échantillons d'urine de femmes), couvrant la plage des concentrations de stéroïdes généralement trouvées

---

<sup>4</sup> L'utilisation d'un mélange de stéroïdes certifiés couvrant la plage des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  normalement trouvées pour les CC et les CRE dans l'urine (par ex. -17‰ à -34‰) est recommandée.

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

dans des *échantillons de contrôle du dopage*<sup>5</sup>. L'analyse de ces échantillons d'urine négatifs doit servir à évaluer l'application de la méthode par le laboratoire et répondre aux critères suivants :

- la valeur moyenne  $\Delta\delta^{13}\text{C} + 2 \text{ ET}$  pour les combinaisons CRE-CC contenant A, T ou les Adiolés en tant que CC ne doit pas être supérieure à 3‰,
  - la valeur moyenne  $\Delta\delta^{13}\text{C} + 2 \text{ ET}$  pour les combinaisons CRE-CC contenant Etio ou E en tant que CC ne doit pas être supérieure à 4‰, et
  - pour chaque combinaison CRE-CC, l'ET de toutes les valeurs  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  ne doit pas être supérieur à 1,2‰.
- La stabilité des impulsions de CO<sub>2</sub> doit être contrôlée avant l'analyse de chaque lot d'*échantillons*. La linéarité du signal doit être vérifiée régulièrement, par ex. tous les mois.
  - Le(s) CC et CRE urinaires, une fois hydrolysés, doivent être purifiés davantage par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (recommandé), extraction en phase solide (SPE) ou autre étape de purification équivalente avant l'analyse par GC-C-IRMS.
  - Un échantillon d'urine témoin négatif<sup>6</sup> (EUTN) et un échantillon témoin positif (EUTP) doivent être inclus dans chaque lot d'*échantillons* analysé et soumis à la même procédure de préparation des *échantillons* (y compris l'hydrolyse des conjugués glucuronides et la dérivation des analytes, le cas échéant). Le(s) CC pertinent(s) doi(ven)t remplir les critères de positivité dans l'échantillon d'urine témoin positif. La cohérence des déterminations  $\delta^{13}\text{C}$  de l'EUTN et de l'EUTP sera contrôlée par l'utilisation de diagrammes d'échantillons témoins.
  - Un MR approprié des stéroïdes libres (non conjugués) pertinents, des CC et des CRE non dérivés ou acétylés, selon le cas, avec des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  traçables, sera injecté avant l'analyse de chaque lot

<sup>5</sup> L'exigence consistant à avoir des mesures venant d'au moins 20 échantillons d'urine de référence de femmes ne s'applique pas aux déterminations de T et de E. En revanche, un nombre total minimum de 40 déterminations de référence est requis pour T.

<sup>6</sup> Cela ne s'applique pas aux déterminations par GC-C-IRMS pour le boldénone, le formestane ou les *métabolites* du boldénone.

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

*d'échantillons*. Il est recommandé que ce MR soit également injecté à la fin de chaque séquence (par ex. après 25 à 30 injections).

- Les laboratoires doivent être capables d'effectuer des analyses GC-C-IRMS sur A, Etio, T, 5 $\alpha$ Adiol et 5 $\beta$ Adiol. Lorsque la concentration est suffisante, le(s) CC doi(ven)t être sélectionné(s)/mis en ordre de priorité en fonction des *variables* du « profil stéroïdien » qui ont déclenché l'analyse par GC-C-IRMS :
  - T, 5 $\alpha$ Adiol et/ou 5 $\beta$ Adiol sont les CC préférés pour détecter l'administration de T.
  - Les laboratoires effectueront des analyses GC-C-IRMS sur E pour les *échantillons* pour lesquels la concentration de E est anormalement élevée, c'est-à-dire supérieure à 200 ng/mL chez les hommes et supérieure à 50 ng/mL chez les femmes (ajustée à la GS<sup>3</sup>).
- L'analyse doit se fonder sur l'utilisation de PD en tant que CRE principal. Cependant, un autre CRE, 16-en, 11-OHA ou 11-O-Etio, doit également être utilisé en routine et remplacer le PD lorsque le signal est supprimé, affecté par une mauvaise chromatographie ou par l'administration d'un précurseur tel que la prégnénolone. Le même CRE doit être utilisé pour la détermination de toutes les valeurs  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ .
- Aucune valeur obtenue à partir de pics d'intensité inférieurs ou supérieurs à la plage de linéarité ou en présence de pics de co-élution significatifs ne doit être prise en compte ou signalée.
- Les stéroïdes peuvent être analysés sans dérivation ou après acétylation, mais seules les valeurs équivalant à des composés libres doivent être utilisées pour déterminer la valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-CC. On utilisera l'équation du bilan massique suivante pour l'ajustement des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  mesurées à partir des acétates jusqu'à la forme libre:

$$\delta\text{C}_s = (\text{n}_{\text{cd}}\delta\text{C}_{\text{cd}} - \text{n}_d\delta\text{C}_{\text{dcorr}}) / \text{n}_s$$

où n: nombre d'atomes de carbone; s: stéroïde normal (forme non dérivée); d: groupe dérivé (par ex. acétyl), et cd: composé dérivé.

Comme  $\delta\text{C}_d$  n'est pas connu,  $\delta\text{C}_{\text{dcorr}}$  est estimé de manière empirique par des mesures consécutives d'un stéroïde non-acétylé et acétylé (par ex. 16-en ou 5 $\alpha$ -androstanol).

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

### 2.2 Identification de *métabolites* urinaires avant le signalement d'un *résultat d'analyse anormal*

- Une analyse par GC-MS est requise pour garantir l'identité des pics des CC et CRE pertinents et l'absence d'interférence significative avant le signalement d'un *résultat d'analyse anormal* sur la base des résultats par GC-C-IRMS. Cela n'est pas nécessaire lorsque les résultats par GC-C-IRMS sont négatifs.
- Les mêmes mélanges doivent être analysés par GC-MS<sup>n</sup> dans des conditions chromatographiques similaires. Des différences mineures dans les temps de rétention (TR) entre les deux techniques sont attendues. Les dispositions du Document technique sur les critères d'identification (TDIDCR) doivent être observées [3]. En outre, un spectre de balayage intégral doit être obtenu sur toute la largeur du ou des pic(s) chromatographique(s) stéroïdien(s) intéressant(s) afin d'attester de l'absence d'interférence.

### 2.3 Interprétation des résultats par GC-C-IRMS

Les résultats des analyses par GC-C-IRMS doivent être interprétés de la manière suivante:

#### 2.3.1 Positifs

Lorsque la/les valeur(s)  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  est/sont cohérente(s) avec l'origine exogène des CC, à savoir si une des combinaisons de critères suivants est satisfaite<sup>7</sup> (**Annexe 1**):

- i. La valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-T, et une des paires CRE-5 $\alpha$ Adiol ou CRE-5 $\beta$ Adiol sont toutes les deux supérieures à 3<sup>0</sup>/00.
- ii. La valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  des deux paires CRE-5 $\alpha$ Adiol et CRE-5 $\beta$ Adiol est supérieure à 3<sup>0</sup>/00.
- iii. La concentration de E est supérieure à 50 ng/mL chez les femmes ou supérieure à 200 ng/mL chez les hommes (ajustée à la GS) et la valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-E est supérieure à 4<sup>0</sup>/00.

<sup>7</sup> On ne s'attend pas à ce que tous les métabolites soient affectés dans la même mesure. Les décisions basées sur les critères  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  spécifiés aux points i) à vii) et à l'Annexe 1 tiennent compte de l'incertitude de mesure associée aux valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  contribuant.

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

- iv. La valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-A est supérieure à 3<sup>0</sup>/<sub>00</sub> ou la valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-Etio est supérieure à 4<sup>0</sup>/<sub>00</sub>.
- v. La valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-A est située entre 2<sup>0</sup>/<sub>00</sub> et 3<sup>0</sup>/<sub>00</sub> ou la valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-Etio est située entre 3<sup>0</sup>/<sub>00</sub> et 4<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, et la valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de l'une des paires CRE-5 $\alpha$ Adiol ou CRE-5 $\beta$ Adiol est supérieure à 3<sup>0</sup>/<sub>00</sub>.
- vi. La valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  de la paire CRE-formestane, CRE-boldénone et/ou CRE-*métabolite* du boldénone est supérieure à 4<sup>0</sup>/<sub>00</sub>.

### 2.3.2 Négatifs

Si les valeurs  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  ne confirment pas l'origine exogène des CC, à savoir si les valeurs  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  des paires CRE-CC ne répondent à aucun des critères spécifiés à la section 2.3.1 ci-dessus.

### 2.3.3 Non concluants

- i) Si uniquement un des critères combinés spécifiés aux points i), ii), v) ou vi) ci-dessus est rempli (par ex. valeur  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  pour la paire CRE-T > 3<sup>0</sup>/<sub>00</sub> mais  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  pour les deux paires de CRE-Adiols < 3<sup>0</sup>/<sub>00</sub>).
- ii) En raison de limitations techniques, par ex. lorsque le volume de l'*échantillon* est insuffisant ou qu'il existe des concentrations très faibles de CC ou de CRE, ou en présence de composés interférents ou de toute autre facteur empêchant une mesure fiable du *métabolite* diagnostique pertinent ou de la paire CRE-CC.
- iii) Le laboratoire peut interpréter les résultats comme n'étant pas concluants lorsque les critères pour signaler un *résultat d'analyse anormal* ne sont pas remplis, mais qu'à son avis, ils ne sont pas cohérents avec l'origine endogène des *métabolites* urinaires (par ex. valeur CRE  $\delta^{13}\text{C}$  à -24,5<sup>0</sup>/<sub>00</sub> et CC à -27,0<sup>0</sup>/<sub>00</sub>).

## **3.0 Rapport des résultats par GC-C-IRMS**

Le laboratoire doit signaler les résultats des analyses par GC-C-IRMS de la manière suivante:

### 3.1 *Résultat d'analyse anormal*

*Échantillons* pour lesquels les résultats de l'analyse par GC-C-IRMS sont positifs:

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

- Chaque *échantillon* pour lequel un *résultat d'analyse anormal* est signalé doit faire l'objet d'un rapport individuel.
- Le rapport d'analyse doit comprendre:
  - Une remarque indiquant que le résultat par GC-C-IRMS est cohérent avec une origine exogène de stéroïdes, en précisant l'identité des CC pertinents ayant abouti à un résultat GC-C-IRMS positif.
  - La valeur  $\delta^{13}\text{C}$  des CC pertinents (ayant abouti à un résultat GC-C-IRMS positif) et des CRE, ainsi que chaque  $u_c$ , associée, exprimée en ‰.
  - Les valeurs confirmées (par ex. concentrations, T/E) du/des *marqueur(s)* du « profil stéroïdien » et l' $u_c$ , associée exprimée en unités (voir exemple ci-dessous ; se reporter au document TDEAAS [2]<sup>8</sup>).

Exemple de signalement pour le rapport d'analyse:

Les résultats par GC-C-IRMS sont cohérents avec l'origine exogène de T et de 5 $\beta$ Adiol (valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  : T = -27,5‰ ;  $u_c$  = 0,9‰ ; 5 $\beta$ Adiol = -25,2‰,  $u_c$  = 0,8‰ ; PD = -20,2‰ ;  $u_c$  = 0,6‰). T = 90 ng/mL,  $u_c$  = 12 ng/mL ; E = 20 ng/mL,  $u_c$  = 3 ng/mL ; T/E = 4,5,  $u_c$  = 0,5.

Fourniture d'un second avis pour GC-C-IRMS

Lorsque les résultats de l'analyse par GC-C-IRMS indiquent un *résultat d'analyse anormal* pour un *échantillon*, le laboratoire devrait demander, par écrit, l'avis d'un expert venant d'un second laboratoire avant de signaler le *résultat d'analyse anormal*. Une fois obtenu, le second avis doit être enregistré dans la documentation du laboratoire.

### 3.2 Résultat atypique

---

<sup>8</sup> Si la procédure de confirmation par GC-C-IRMS est appliquée au formestane, au boldénone ou aux *métabolites* du boldénone uniquement, le laboratoire n'a pas besoin d'effectuer la confirmation quantitative de ces substances, ou de signaler les valeurs confirmées des *marqueurs* du « profil stéroïdien ».

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

*Échantillons* pour lesquels les résultats de l'analyse par GC-C-IRMS ne sont pas concluants:

- Chaque *échantillon* pour lequel un *résultat atypique* est signalé doit faire l'objet d'un rapport individuel.
- Le rapport d'analyse doit comprendre:
  - Une remarque indiquant que le résultat par GC-C-IRMS n'est pas concluant et précisant l'identité de chaque CC ayant abouti à un résultat GC-C-IRMS non concluant.
  - La valeur  $\delta^{13}\text{C}$  de tous les CC et CRE pertinents, et chaque  $u_c$ , associée exprimée en ‰.
  - Les valeurs confirmées (par ex. concentrations, T/E) du ou des *marqueur(s)* anormal/anormaux du « profil stéroïdien » et l' $u_c$ , associée exprimée en unités [2] (voir exemple ci-dessous)<sup>8</sup>.

Exemple de signalement pour le rapport d'analyse:

Les résultats de l'analyse par GC-C-IRMS pour T et les Adiolis ne sont pas concluants (valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  : A =  $-25,3\text{‰}$  ;  $u_c = 0,6\text{‰}$  ; Etio =  $-26,2\text{‰}$ ,  $u_c = 0,7\text{‰}$  ; T =  $-27,6\text{‰}$  ;  $u_c = 0,9\text{‰}$  ;  $5\alpha$ Adiol =  $-26,6\text{‰}$ ,  $u_c = 0,8\text{‰}$  ;  $5\beta$ Adiol =  $-26,6\text{‰}$ ,  $u_c = 0,7\text{‰}$  ; PD =  $-24,5\text{‰}$  ;  $u_c = 0,8\text{‰}$ ). T = 110 ng/mL,  $u_c = 16$  ng/mL ; E = 10,8 ng/mL,  $u_c = 1,8$  ng/mL ; T/E = 10,2,  $u_c = 0,8$ .

3.3 Il n'a été détecté aucune *substance interdite* ou *métabolite* ou *marqueur* d'une *méthode interdite* figurant au menu d'analyse

*Échantillons* pour lesquels les résultats de l'analyse par GC-C-IRMS sont négatifs:

- Chaque *échantillon* doit faire l'objet d'un rapport individuel.
- Le rapport d'analyse doit comprendre:
  - une remarque indiquant que les résultats par GC-C-IRMS ne révèlent pas une origine exogène des stéroïdes,
  - la valeur  $\delta^{13}\text{C}$  de tous les CC et CRE analysés et chaque  $u_c$  associée, exprimée en ‰,
  - les valeurs confirmées (concentrations, T/E) du ou des *marqueur(s)* anormal/anormaux du « profil stéroïdien » qui a déclenché l'analyse GC-C-IRMS et l' $u_c$ , associée exprimée en unités [2] (voir exemple ci-dessous)<sup>8</sup>.

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

Exemple de signalement pour le rapport d'analyse:

Les résultats par GC-C-IRMS ne confirment pas l'origine exogène des valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  des stéroïdes : A =  $-24,3\text{‰}$ ;  $u_c = 0,7\text{‰}$  ; Etio =  $-23,8\text{‰}$ ,  $u_c = 0,8\text{‰}$  ; T =  $-25,9\text{‰}$ ;  $u_c = 0,8\text{‰}$ ;  $5\alpha\text{Adiol} = -25,8\text{‰}$ ,  $u_c = 0,8\text{‰}$  ;  $5\beta\text{Adiol} = -26,6\text{‰}$ ,  $u_c = 0,9\text{‰}$  ; PD =  $-23,5\text{‰}$  ;  $u_c = 0,6\text{‰}$ . T = 43,4 ng/mL,  $u_c = 7,5$  ng/mL ; E = 7 ng/mL,  $u_c = 1,0$  ng/mL ; T/E = 6,2,  $u_c = 0,5$ .

### 4.0 Interprétation

- Les méthodes de confirmation GC-C-IRMS et GC-MS<sup>n</sup> fournissent des informations indépendantes et complémentaires, mais leurs résultats doivent être pris en considération ensemble pour aboutir à une conclusion soutenue par la littérature et les connaissances scientifiques.
- Le « profil stéroïdien » urinaire peut présenter une absence d'anomalie majeure tout en étant excrété suite à l'administration d'un SAAE ; dans un tel cas, les résultats de l'analyse par GC-C-IRMS indiquant une origine synthétique des *métabolites* stéroïdes doivent primer.
- Inversement, les valeurs du/des *marqueur(s)* du « profil stéroïdien » peuvent être en dehors de la plage de référence longitudinale propre au sujet tout en étant d'origine endogène (par ex. forte consommation d'éthanol aboutissant à une excrétion urinaire accrue de T et de  $5\beta\text{Adiol}$ , formation microbienne de T libre, ou exercices intenses et prolongés accroissant l'excrétion de A).
- Le « profil stéroïdien » peut être modifié par l'administration d'une préparation de stéroïde apparenté à la testostérone d'une valeur  $\delta^{13}\text{C}$  relativement enrichie, qui peut donc ne pas être détectée par GC-C-IRMS. Dans de tels cas, les dispositions du Document technique sur les exigences en matière de gestion des résultats pour le Passeport biologique de l'athlète (TDRMR) doivent être observées [4].

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

### 5.0 Références

[https://www.wada-ama.org/en/resources/search?f\[0\]=filed\\_resource\\_collections%3A30](https://www.wada-ama.org/en/resources/search?f[0]=filed_resource_collections%3A30)

1. Document technique TD19NA de l'AMA (version actuelle) : Harmonisation de l'analyse et des rapports aux 19-norstéroïdes apparentés à la nandrolone.
2. Document technique TDEAAS de l'AMA (version actuelle) : Stéroïdes anabolisants androgéniques endogènes: mesures et rapports.
3. Document technique TDIDCR de l'AMA (version actuelle) : Critères minimum pour la confirmation par chromatographie et spectrométrie de masse de l'identité des analytes à des fins de contrôle du dopage.
4. Document technique TDRMR de l'AMA (version actuelle) : Exigences de gestion des résultats pour le Passeport biologique de l'athlète. Annexe E aux « Lignes directrices opérationnelles pour le Passeport biologique de l'athlète ».

## Document technique de l'AMA – TD2016IRMS-FR

Document n°:	TD2016IRMS-FR	Version n°:	1.0
Rédaction:	Groupe d'experts Laboratoires de l'AMA	Approuvé par:	Comité exécutif de l'AMA
Date:	16 septembre 2015	Date d'entrée en vigueur:	1 <sup>er</sup> janvier 2016

### **Annexe 1. Critères d'interprétation pour des analyses positives par GC-C-IRMS**

Critères positifs Section 2.3	$\Delta\delta$ CRE-CC					
	T	E <sup>#</sup>	A	Etio	5 $\alpha$ Adiol, 5 $\beta$ Adiol	Boldénone, formestane, métabolites duboldénone
i.	> 3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>				> 3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub> (l'un ou l'autre Adiol)	
ii.					> 3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub> (les deux Adiol)	
iii.		> 4 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>				
iv.			> 3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>			
				> 4 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>		
v.			2-3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>		> 3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub> (l'un ou l'autre Adiol)	
				3-4 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	> 3 <sup>0</sup> / <sub>00</sub> (l'un ou l'autre Adiol)	
vi.					$\Delta\delta(\text{CRE-5}\alpha) > 4^0/_{00}$ et $\delta(5\alpha) \leq -27^0/_{00}$	
vii.						> 4 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>

# Concentration (ajustée à la GS<sup>3</sup>) supérieure à 50 ng/mL chez les femmes ou supérieure à 200 ng/mL chez les hommes.