******

***WADA* tehniskais dokuments – TD2021DL**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Dokumenta numurs: | TD2021DL | Versijas numurs: | 1.0 |
| Sarakstījusi:  Pārskatījusi: | *WADA* zinātnes/*DL* darba grupa  *WADA* Laboratoriju ekspertu grupa | Apstiprinājusi: | *WADA* izpildkomiteja |
| Datums: | 2020. gada 21. decembris | Spēkā stāšanās diena: | 2021. gada 1. aprīlis |

***IZŠĶIRŠANAS ROBEŽAS* APSTIPRINĀTĀ EKSOGĒNO SLIEKŠŅA VIELU DAUDZUMA NOTEIKŠANAI AR ANALĪZES METODĒM, KURAS IR BALSTĪTAS UZ HROMATOGRĀFIJU**

**1.0. Ievads**

Šā *tehniskā dokumenta* (*TD*) mērķis ir saskaņot ziņošanu par rezultātiem attiecībā uz eksogēnām sliekšņa vielām (kas uzskaitītas 1. tabulā), ja tās analizē urīna *paraugos*, izmantojot hromatogrāfijas kvantitatīvās apstiprināšanas procedūras (*CP*), jo īpaši ņemot vērā *izšķiršanas robežas* (*DL*), ko piemēro, lai noteiktu, vai analīžu rezultāts liecina par *nelabvēlīgu analīžu rezultātu* (*AAF*). Turklāt tajā ir aprakstītas situācijas, kad *DL* koriģē atbilstoši urīna *parauga* īpatnējam svaram (*SG*), kā arī mērījumu nenoteiktības (*MU*) informācijas izmantošana šādu *DL* noteikšanā.

*[Piezīme. Izšķiršanas robežas endogēnām sliekšņa vielām (piemēram, cilvēka horiona gonadotropīns (hCG) un cilvēka augšanas hormons (hGH)) ir noteiktas īpašos TD[1,2] vai laboratoriju vadlīnijās[3].]*

Šajā dokumentā ir noteiktas prasības šādās jomās:

* + - mērķa analizējamā(-ās) viela(-as);
    - robežvērtība (*T*) un *DL*;
    - maksimālās *MU* vērtības;
    - *DL* koriģēšana atbilstoši *SG*;
    - kvantitatīvo rezultātu paziņošana.

Papildu norādījumi ir sniegti A pielikumā, tostarp:

* + - *MU* aplēses;
    - *MU* pārbaude laboratorijā.

**1. tabula**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Vielas klase** | **Sliekšņa viela** | **Robežvērtība**  **(*T*)** | **Maksimālā relatīvā kombinētā standarta nenoteiktība *T* līmenī**  ***uc\_Max*** (%) | ***Izšķiršanas robeža***  **(*DL*)**a |
| S3. Beta-2-agonisti | salbutamols | **1,00 µg/ml** | 10 | **1,20 µg/ml** |
| formoterols | **40,0 ng/ml** | 15 | **50,0 ng/ml** |
| S6. Stimulanti | katīns | **5,00 µg/ml** | 10 | **6,00 µg/ml** |
| efedrīns | **10,0 µg/ml** | 5,0 | **11,0 µg/ml** |
| metilefedrīns | **10,0 µg/ml** | 5,0 | **11,0 µg/ml** |
| pseidoefedrīns | **150 µg/ml** | 5,0 | **170 µg/ml** |
| S7. Narkotiskās vielas | morfīns | **1,00 µg/ml** | 15 | **1,30 µg/ml** |
| S8. Kanabinoīdi | karboksi-*THC* | **150 µg/ml** | 10 | 1. **/ml** |

a) *DL*, kas izteikta līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem, tiek iegūta pēc tam, kad aizsargjosla *g* ir pieskaitīta *T*, kas veido atbilstošo *uc\_Max* un nodrošina, ka jebkura vērtība, kas pārsniedz *DL*, kura iegūta ar kvantitatīvo analītisko metodi, ir lielāka par (>) *T* ar vismaz 95 % lielu statistisko ticamību (skat. 3.0. pantu).

**2.0. Mērķa analizējamās vielas**

## Kvantitatīvais rezultāts

Saskaņā ar Laboratoriju *starptautisko* *standartu* (*ISL*)[4] sliekšņa vielām piemērotās kvantitatīvās *CP* rezultātu pamatā jābūt trīs (3) neatkarīgi noteiktām vidējām vērtībām. Rezultātā iegūtā relatīvā standartnovirze (*RSD*, %) saskan ar kvantitatīvās *CP* metodes validācijas datiem.

Laboratorija, izmantojot metodes validāciju, tostarp aplēšot *MU*, pierāda kvantitatīvās *CP* atbilstību nolūkam. Atbilstība kritērijiem, kas 1. tabulā norādīti attiecībā uz *uc\_Max* (%), nodrošina saskaņotu ziņošanu par *AAF*, tiklīdz koncentrācija ir sasniegusi līmeni, kas pārsniedz piemērojamo *DL*.

## Kvalitatīvais rezultāts

Vienā no trim (3) neatkarīgiem iegūtajiem rezultātiem saskaņā ar spēkā esošo *TD IDCR*[5] identificē mērķa analizējamo(-ās) vielu(-as).

## 2.1. Beta-2 agonisti – formoterols un salbutamols

Koncentrācijas līmeni nosaka, pamatojoties uz formoterola vai salbutamola saturu, kas definēts kā vielas ekvivalenta veidā izteikta brīvās vielas un tās glikurokonjugēto formu kombinācija.

Ja *paraugā* konstatē kādu no šīm eksogēnajām sliekšņa vielām kopā ar kādu aizliegtu diurētisko līdzekli vai citu maskētājlīdzekli (kas norādīts *Aizliegto vielu un metožu sarakstā*[6]), ko identificē saskaņā ar *TD MRPL*[7] un *TD IDCR*[5], šīs sliekšņa vielas apstiprināšanai nepieciešams tikai identificēt savienojumu, nevis noteikt tā daudzumu. Šādos gadījumos laboratorija:

* + - veic diurētiskā līdzekļa / maskētājlīdzekļa *CP* un rezultātus paziņo kā *AAF* saskaņā ar *TD MRPL*[7] un *TD IDCR*[5];
    - veic (kvalitatīvo) *CP* attiecībā uz beta-2 agonistu un rezultātus paziņo kā *AAF*, ja tas ir identificēts **jebkurā koncentrācijas līmenī** saskaņā ar *TD IDCR*[5].

Gadījumos, kad *paraugā* ir konstatēts diurētisks līdzeklis vai maskētājlīdzeklis, jebkura šā beta-2 agonista vienlaicīgu klātbūtni uzskata par *AAF*, ja vien attiecībā uz šo beta-2 agonistu nav apstiprinātas *TLA* (skat. 2021. gada *ISL* 5. panta 3. punkta 6. apakšpunkta 2. daļas 2. punktu).

## 2.2. Stimulanti – katīns, efedrīns, metilefedrīns un pseidoefedrīns

Koncentrācijas līmeni nosaka, pamatojoties uz katras mērķa sliekšņa vielas sākumsavienojumu brīvajā daļā.

Ja *paraugā* konstatē kādu no šīm eksogēnajām sliekšņa vielām kopā ar kādu aizliegtu diurētisko līdzekli vai citu maskētājlīdzekli[6], ko identificē saskaņā ar *TD MRPL*[7] un *TD IDCR*[5], stimulanta apstiprināšanai nepieciešams tikai identificēt savienojumu, nevis noteikt tā daudzumu. Šādos gadījumos laboratorija:

* + - veic diurētiskā līdzekļa / maskētājlīdzekļa *CP* un rezultātus paziņo kā *AAF* saskaņā ar *TD MRPL*[7] un *TD IDCR*[5];
    - veic stimulanta (kvalitatīvo) *CP* un, ja tas tiek identificēts saskaņā ar *TD IDCR*[5] un **aplēstais koncentrācijas līmenis ir lielāks par (>) piemērojamo *minimālo ziņošanas līmeni* (*MRL*) stimulatoriem**, kas noteikts *TD MRPL*[7], paziņo, ka rezultāti ir *AAF*.

Gadījumos, kad *paraugā* ir konstatēts diurētiskais līdzeklis vai maskētājlīdzeklis, jebkura šā stimulanta vienlaicīgu klātbūtni uzskata par *AAF*, ja vien attiecībā uz šo stimulantu nav apstiprinātas *TLA* (skat. 2021. gada *ISL* 5. panta 3. punkta 6. apakšpunkta 2. daļas 2. punktu).

Laboratorija paziņo par katīnu kā par *AAF*, ja tā koncentrācijas līmenis urīnā ir lielāks par (>) *DL*. Tomēr, ja *paraugā* konstatē arī pseidoefedrīnu, kura koncentrācijas līmenis ir mazāks par (<) *DL*, paziņo arī pseidoefedrīna koncentrācijas līmeni un pārbaudes ziņojumā iekļauj piezīmi par to, vai katīna atrade varētu būt radusies, ievadot pseidoefedrīnu.

Laboratorijas iepazīstas ar *TL*05 (Oksilofrīns)[8] vai jebkuru citu attiecīgu tehnisko vēstuli, kurā sniegtas norādes par atradēm, kas saistītas ar sliekšņa vielām, kuras *Aizliegto vielu un metožu sarakstā* klasificētas kā stimulanti[6].

## 2.3. Morfīns

Koncentrācijas līmeni nosaka, pamatojoties uz morfīna saturu, kas definēts kā morfīna ekvivalenta veidā izteikta brīvās vielas (brīvā morfīna) un tā glikurokonjugēto formu (morfīna-3-glikuronīds un morfīna-6-glikuronīds) kombinācija.

Reizēm morfīna atrade var būt radusies kādas atļautas vielas, piemēram, kodeīna vai etilmorfīna, ievadīšanas rezultātā.

* Laboratorijas iepazīstas ar tehnisko vēstuli *TL*22 (Etilmorfīns)[9], kur sniegta informācija par tām morfīna atradēm, kas varētu būt saistītas ar etilmorfīna ievadīšanu.
* Ja *paraugā* konstatē kodeīnu, laboratorijas ziņo par *AAF* attiecībā uz morfīnu gadījumos, kad ir izpildīti abi šie nosacījumi:
  + morfīna koncentrācijas līmenis urīnā ir lielāks par (>) *DL* vai koriģēto *DL* (ja *SG* > 1,018) un
  + morfīna (M) attiecība pret kodeīnu (*C*, definēts kā brīvā kodeīna un kodeīna-6-glikuronīda kombinācija, izteikta kā kodeīna ekvivalents) M/*C* ir vienāda ar 2,00 vai lielāka (≥) (izteikta, saīsinot līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem), izņemot gadījumus, kad *C* > 5,00 µg/ml, kas liecina par to, ka ir uzņemts tikai kodeīns (šajā gadījumā morfīna kvantitatīvā noteikšana nav nepieciešama un atradi paziņo kā negatīvu rezultātu).

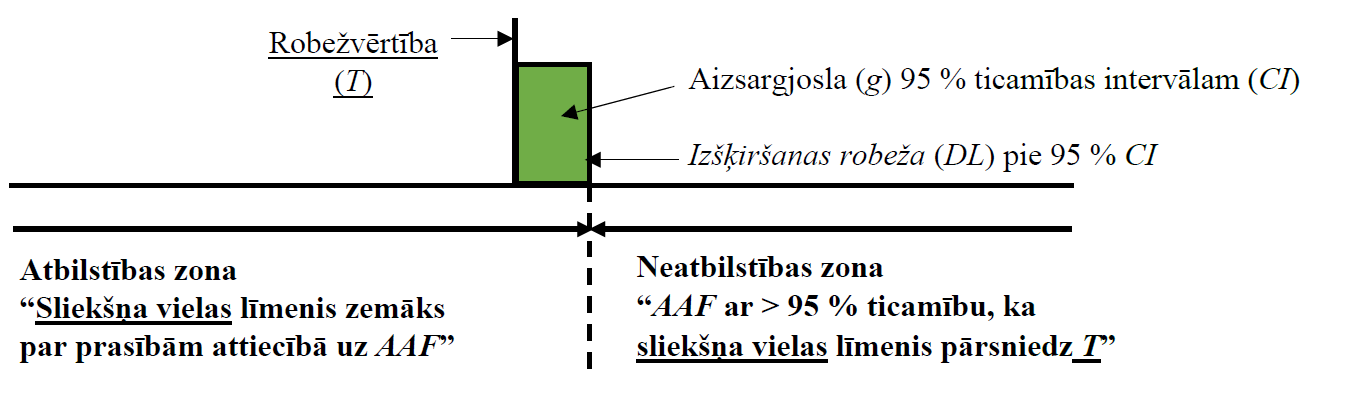
*[Piezīme. C koncentrācijas līmeni izsaka, saīsinot līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem.]*

## 2.4. Karboksi-*THC* (11-nor-∆9-tetrahidrokanabinol-9-karbonskābe)

Koncentrācijas līmeni nosaka, pamatojoties uz karboksi-*THC* saturu, kas definēts kā vielas ekvivalenta veidā izteikta brīvās vielas un tās glikurokonjugēto formu kombinācija.

**3.0. Robežvērtība (*T*) un *izšķiršanas robeža* (*DL*)**

Ja *aizliegtajai vielai* ir noteikta *T*, *DL* ir šai *aizliegtajai vielai* noteiktā vērtība, kuras pārsniegšanas gadījumā var nolemt, ka rezultāts, kas konkrētajam *paraugam* iegūts, izmantojot validētu mērījumu veikšanas procedūru, ir pārsniedzis *T* ar vismaz 95 % lielu statistisko ticamību un tātad *AAF* ir pamatots. Tas ir ilustrēts 1. attēlā.



**1. attēls.** Aizsargjoslas (*g*) izmantošana, lai noteiktu *DL* attiecībā pret *T* un diferencētu atbilstības un neatbilstības zonas.

*DL* vērtību aprēķina, summējot *T* vērtību un aizsargjoslu (*g*), kur *g* aprēķina, pamatojoties uz attiecīgo 1. tabulā norādīto *WADA* maksimālo pieņemamo vērtību (mērvienība/ml) kombinētajai standarta nenoteiktībai (*uc\_Max*), izmantojot aptvēruma koeficientu *k*, kas ir 1,645 (95 % aptvēruma diapazons, vienpusējs parastais sadalījums). Tad iegūtā *DL* vērtība tiek noapaļota uz augšu līdz otrajam nozīmīgajam ciparam.

Text, letter

Description automatically generated

Ja *paraugā* konstatētā vērtība pārsniedz *T* vērtību, bet ir mazāka par *DL* vai vienāda ar to, laboratorija paziņo šo rezultātu kā negatīvu rezultātu un iekļauj ieteikumu (piemēram, pārbaudes ziņojuma sadaļā “Atzinums”) *rezultātu pārvaldības* iestādei ņemt vērā šo rezultātu, nākotnē plānojot savas “mērķa un izlūkdatu” pārbaudes. Šis rezultāts nav *AAF* neatkarīgi no tā, kādu *MU* vērtību laboratorija paziņo rezultātos.

# 4.0. Maksimālā pieļaujamā mērījumu nenoteiktība

Maksimāli pieļaujamā kombinētā standarta nenoteiktība (*uc\_Max*, %) ir obligātā prasība, kas laboratorijai jāievēro, ziņojot par sliekšņa vielas noteikšanas rezultātu, attiecībā uz mērījuma nenoteiktību, kuras aplēstā vērtība ir tuva *T* vērtībai. *uc\_Max* (%) vērtības ir noteiktas tā, lai laboratorija varētu pamatoti paļauties, ka spēs tās nepārsniegt, piemērojot kvantitatīvo *CP* sliekšņa vielu noteikšanai.

Vairumā gadījumu *uc\_Max* (%) tiek piešķirta, izmantojot stabilas metodes atveidojamības (*SR*) aplēses, kas iegūtas, kombinējot iesaistītās laboratorijas rezultātus attiecīgajās ārējās kvalitātes novērtēšanas shēmas (*EQAS*) kārtās. Gadījumos, kad šajā *TD* tiek iekļauta jauna sliekšņa viela, pirms ir pieejami *EQAS* darbības dati, tiks izmantotas alternatīvas pieejas attiecīgo *uc\_Max* (%) piešķiršanai.Šādā gadījumā *WADA* laboratorijas ekspertu grupai (*LabEG*) ir jāpārskata un jāapstiprina piešķirtā *uc\_Max* (%) vērtība. Ja kļūst pieejami dati no turpmākām *EQAS* kārtām, *uc\_Max* (%) vērtību var pārskatīt, lai tā atbilstu faktiskajai laboratoriju analītiskajai veiktspējai.

*WADA* iegūtie *EQAS* rezultāti liecina, ka šīs minimālās prasības ir piesardzīgas. Nosakot mērķvērtības, tiek pieņemts, ka ar *MU* datiem saistītās brīvības pakāpes ir augstas.

* + - Laboratorijas aprēķina relatīvo kombinēto standarta nenoteiktību (*uc*, %) attiecībā uz rezultātu tādā līmenī, kas ir tuvs *T* vērtībai, katrai sliekšņa vielu kvantitatīvajai *CP*.
    - Aplēstā *uc* (%) vērtība nepārsniedz (≤) 1. tabulā norādīto *uc\_Max* (%) vērtību.

*[Piezīme. Saskaņā ar iepriekš teikto šīs uc\_Max (%) vērtības ir uzskatāmas par piesardzīgām, tādēļ laboratorijas var ziņot arī par mazākām uc (%) vērtībām.]*

A pielikumā ir izklāstītas dažādas pieejas, kā iegūt nolūkam atbilstīgas *uc* (%) aplēses saistībā ar konkrētās mērīšanas procedūras rezultātiem.

# 5.0. *DL* koriģēšana atbilstoši urīna īpatnējam svaram (*SG*)

* + - Jebkuras šajā dokumentā aplūkotās sliekšņa vielas gadījumā, ja urīna *parauga* *SG* (*SGSample*) ir lielāka par (>) 1,018, koriģēto *DL* atsevišķam pārbaudes rezultātam (*DLadj*) aprēķina saskaņā ar 5. formulu, kas norādīta turpmāk tekstā.

*[Piezīme. SGSample DL korekcijas robežvērtība ir noteikta 1,018 apmērā, lai ņemtu vērā 95 % aptvēruma intervāla apakšējo robežu, pamatojoties uz divpusēju parasto sadalījumu, bet SG atsauces vērtība normāli hidratētām personām ir 1,020 (aprēķināta kā 1,020 – UMax\_SG).]*

* + - *SG* vērtība (*SGSample*), kas izmantojama 6. formulā, lai aprēķinātu *SGSample\_Max*, ir laboratorijā izmērītā vērtība.

*[Piezīme. Laboratorija izmēra SGSample vērtības vienā alikvotā sākotnējās pārbaudes procedūras (ITP) un CP laikā, izmantojot metodi, kas ir iekļauta laboratorijas ISO/IEC 17025 akreditācijas darbības jomā, šādi:*

* + - * *ITP – visos paraugos, izmantojot digitālo refraktometru vai densitometru;*
      * *CP – visām paraugu “A” un “B” daļām izmanto digitālo refraktometru. SG DL korekcija nav nepieciešama attiecībā uz:*

*i) paraugu “A” un “B” daļu apstiprinājumiem attiecībā uz tām eksogēnajām sliekšņa vielām, kuru daudzumu nenosaka, ja tās konstatē aizliegta diurētiska līdzekļa vai cita maskētājlīdzekļa klātbūtnē, un*

*ii) eksogēno sliekšņa vielu parauga “B” daļas apstiprinājumiem, jo šādos gadījumos saskaņā ar ISL[4] AAF ir derīgs tikai tad, ja parauga “B” daļas rezultāti apstiprina parauga “A” daļā identificēto vielu (saskaņā ar TD IDCR[5]).*

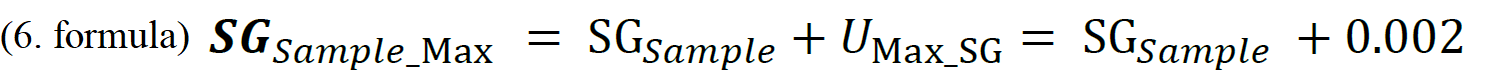
*Ja ar instrumentu izmērīto SGSample nolasa kā vienādu ar četriem (4) vai vairāk (≥) cipariem aiz komata, SGSample ir vērtība, kas iegūta pēc tam, kad instrumentālā vērtība ir noapaļota un izteikta kā skaitlis, kuram ir līdz trīs (3) cipariem aiz komata (piemēram, 1,0223 jāizsaka kā 1,022 un 1,0227 – kā 1,023. Ja izmērītā vērtība beidzas ar ciparu 5, tā jāizsaka kā tuvākais lielākais skaitlis ar trīs cipariem aiz komata, piemēram, 1,0225 jāizsaka kā 1,023).]*

* + - *SG* korekcija pret *DL* jāveic, izmantojot šādu formulu:

Text

Description automatically generated with low confidence

kur *SGSample\_Max* aprēķina šādi:



*UMax\_SG* = 0,002 ir maksimālā pieļaujamā paplašinātā nenoteiktība (*U*95 %, *k*= 2) attiecībā uz *SG*.

* + - Noteikto *DLadj* vērtību izsaka, saīsinot līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem (pēdējās nulles (0) uzskata par nozīmīgiem cipariem, piemēram, 1,50 un 100) (skat. B pielikumu).

# 6.0. Ziņošana

Paziņojot par *AAF* sliekšņa vielai, ir jānorāda vismaz šāda informācija:

* + - kvantitatīvi noteiktais rezultāts (ziņots kā vidējā vērtība no trīsreiz iegūtiem rezultātiem un saīsināts līdz trim (3) nozīmīgajiem cipariem; beigu nulles (0) uzskata par nozīmīgiem cipariem, piemēram, 13,0 un 190);
    - apliecinājums, ka kvantitatīvais rezultāts pārsniedz (>) attiecīgo *DL* (vai *DLadj*, ja *SG* > 1,018), un
    - ar rezultātu saistītā *uc* (%), kas ir tuva *T* vērtībai, kura noteikta kvantitatīvās *CP* metodes validācijas laikā (un kura nedrīkst būt lielāka par (≤) 1. tabulā norādīto atbilstošo *uc\_Max* (%) vērtību).

Ziņošanas piemērs pārbaudes ziņojumā:

“*Aizliegtās vielas* A” koncentrācijas līmenis *paraugā* ir X,XX (mērvienības). Tā pārsniedz *DL* (pēc korekcijas attiecībā uz *SG*, ja piemērojams) attiecībā uz A no Y (vienības). Relatīvā kombinētā standarta nenoteiktība (*uc* %), ko laboratorija aplēsusi attiecībā uz rezultātu pie robežvērtības *Z*, ir “*b*” (%). Šis rezultāts ir *nelabvēlīgs analīžu rezultāts*, jo *paraugā* ir viela A.”

# 7.0. Interpretācijas piemēri

7.1. *Paraugā* ir konstatēts efedrīns, kura *SG* vērtība ir 1,018 un koncentrācijas līmenis – 11,208 µg/ml, izmantojot kvantitatīvu analītisko metodi, kur rezultāta *uc* (%) ir 3,6 %, ja *T* ir 10 µg/ml.

Saskaņā ar šajā *TD* noteiktajiem ziņošanas noteikumiem (skat. 6.0. pantu) šis rezultāts ir *AAF*, jo *paraugā* efedrīna koncentrācijas līmenis, saīsināts līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem, ir 11,2 µg/ml un pārsniedz *DL*, kas efedrīnam ir 11,0 µg/ml. 3,6 % *uc* ir zemāka nekā atbilstošā *uc\_Max* (%), kas ir 5,0. Par šādām atradēm paziņo tā, kā norādīts turpmāk.

Pārbaudes ziņojums: “Efedrīna koncentrācijas līmenis *paraugā* ir 11,2 µg/ml. Tas pārsniedz *DL*, kas efedrīnam ir noteikts 11 µg/ml apmērā. Relatīvā kombinētā standarta nenoteiktība (*uc* %), ko laboratorija aplēsa attiecībā uz rezultātu pie robežvērtības (10 µg/ml), ir 3,6 %*.* Tas ir *AAF*, jo *paraugā* ir konstatēta efedrīna klātbūtne.”

7.2. *Paraugā* ir konstatēts karboksi-*THC*, kura *SG* vērtība ir 1,022 un koncentrācijas līmenis – 216,7 µg/ml, izmantojot kvantitatīvu analītisko metodi, kur *uc* attiecībā uz rezultātu ir 9,0 %, ja robežvērtība ir 150 µg/ml. *DLadj*, kas aprēķināta saskaņā ar 5. formulu un izteikta, saīsinot līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem, ir 216 µg/ml (skat. B pielikumu).

Saskaņā ar šajā *TD* noteiktajiem ziņošanas noteikumiem (skat. 6.0. pantu) šis rezultāts nav *AAF*, jo *paraugā* karboksi-*THC* koncentrācijas līmenis, saīsināts līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem, ir 216 µg/ml un nepārsniedz *DL*, kas karboksi-*THC* gadījumā ir 216 µg/ml.

Tā kā karboksi-*THC* koncentrācijas līmenis nepārsniedz koriģēto *DL*, laboratorija šo rezultātu paziņo kā negatīvu rezultātu un iekļauj ieteikumu (piemēram, pārbaudes ziņojuma sadaļā “Atzinums”) *rezultātu pārvaldības* iestādei ņemt vērā šo rezultātu savā pārbaužu veikšanas plānā.

*[Piezīme. Ja parauga sliekšņa vielas rezultāts nepietiekami pārsniedz DL, laboratorijas rezultāta ticamības intervāls [vidējā ± paplašinātā nenoteiktība U95 % (k = 2)] var būt zemāks nekā DL. Ir svarīgi norādīt, ka AAF tādēļ netiek anulēts. Lai veiktu atbilstošu statistikas salīdzinājumu, uc ar vienpusēja sadalījuma aptvēruma koeficientu (k = 1,645) tiek ņemta vērā, salīdzinot laboratorijas rezultātus ar T, lai pierādītu, ka attiecībā uz sliekšņa vielu iegūtais rezultāts pārsniedz T ar ticamību, kas ir lielāka par (>) 95 %.]*

# A PIELIKUMS

**1. Mērījumu nenoteiktības (*MU*) aplēšana**

Starptautiskajā metroloģijas vārdnīcā (*ISO/IEC Guide 99:2007* [ISO/*IEC* Rokasgrāmata 99:2007])[10] *MU* ir formāli definēta kā parametrs, kas raksturo izmērāmajam lielumam piesaistīto daudzuma vērtību izkliedi.

Vienkāršāk sakot, rezultāta kombinētā standarta *MU* [*uc*(*y*)] ir vienāda ar aplēsto standartnovirzi (*SD*), kas saistīta ar šo rezultātu (*y*) un būtu iegūta attiecībā uz analizējamo paraugu, ja analīze būtu atkārtota vairākas reizes. Reizinot *uc*(*y*) ar aptvēruma koeficientu (*k*), iegūst paplašināto *MU* (*U*), kas saistīta ar rezultātu (*y*). Konkrētam paraugam rezultāta (*y*) un ar to saistītās *U* kombinācija norāda vērtību izkliedes diapazonu, ko pamatoti var attiecināt uz izmērāmo lielumu noteiktā statistiskās ticamības līmenī. *Dopinga kontroles* nolūkos izmanto *U* vērtību, kas atbilst 95 % aptvēruma diapazona.

Akreditācijai saskaņā ar standartu ISO/IEC 17025[11], kā arī atbilstībai *ISL*[4] ir nepieciešams, lai laboratorijas novērtē ar saviem rezultātiem saistīto *MU* tādos līmeņos, kas ir tuvi robežvērtībai, un attiecīgā gadījumā paziņo nenoteiktību. Rokasgrāmatā *ISO/IEC Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* [ISO/*IEC* Rokasgrāmata par nenoteiktības izteikšanu mērījumos] (*GUM*) ir noteikti vispārēji noteikumi par mērījumu nenoteiktības novērtēšanu un izteikšanu, kas ir piemērojami laboratorijām, kas akreditētas atbilstoši ISO/IEC 17025[12].

*GUM* citētie piemēri nenoteiktības novērtēšanai ir saistīti ar vienu metodi, kas citur tiek dēvēta par “analītisko”, “modelēšanas” vai “augšupvērsto” pieeju. *GUM* pamatprincipi ļauj izmantot arī vairāk vispārējas pieejas *MU* avotu novērtēšanai, kuras parasti dēvē par “lejupvērstām” vai “empīriskām” pieejām, kurās izmanto datus, kas iegūti no laboratorijas iekšējiem vai starplaboratoriju metodes validācijas pētījumiem, iekšējās kvalitātes kontroles procedūrām vai no *EQAS* rezultātiem. Visas šīs pieejas var būt saderīgas ar *GUM* principiem, ja vien iegūtā *MU* aplēse ir piemērota paredzētajam mērījuma mērķim. Ir pieejami dažādi atsauces materiāli, kuros ir sniegti derīgi piemēri gan par “augšupvērstām”, gan par “lejupvērstām” pieejām *MU* aplēšanai[13, 14, 15, 16, 17].

Ar individuālu rezultātu (*y*) saistītās kombinētās standarta mērījumu nenoteiktības *uc*(*y*) aplēšanai var izmantot dažādas pieejas. Tiek izmantota:

A. modelēšanas pieeja, kas balstīta uz *GUM* aprakstītajiem principiem;

B. laboratorijas iekšējā pieeja – iekšējo metodes validācijas datu kombinēšana ar kvalitātes kontroles datiem;

C. starplaboratoriju pieeja – datu iegūšana starplaboratoriju analīzē vai no *EQAS*.

Nenoteiktības aplēšanai izmantotajai stratēģijai nav jāatbilst tikai vienam ekskluzīvam modelim, un praksē var izmantot divās vai vairākās dažādās pieejās iegūto datu kombināciju.

Visas šīs pieejas tiek uzskatītas par pieņemamām. Jebkuru no šīm pieejām laboratorija var izmantot, lai aplēstu *MU*, kas saistīta ar mērījuma rezultātiem, ar nosacījumu, ka laboratorijas aplēses nepārsniedz maksimāli pieļaujamo (mērķa) *MU*, kas saistīta ar konkrēto *WADA* norādīto sliekšņa vielu noteikšanu. Šīs maksimāli pieļaujamās *MU* vērtības ir iegūtas piesardzīgos aprēķinos, pamatojoties uz *EQAS* darbības datiem.

## A. Modelēšanas pieeja

Šajā gadījumā laboratorija izstrādā mērījuma vienādojumu vai modeli, kurā rezultāts (*y*) ir neatkarīgu ievades parametru *x1, x2, x3 .. xn* funkcija, un tie visi ietekmē mērījumu rezultātu.

Ja matemātiskais modelis ir saskaitīšanas/atņemšanas un reizināšanas/saskaitīšanas darbību kombinācija, tad, lai aprēķinātu *uc*(*y*), izmanto atbilstošu kvadrātisku kombināciju. Šo pieeju sauc arī par “augšupvērsto” jeb “*GUM*” pieeju.

*GUM* pieejas pamatā ir nenoteiktību izplatība, kur novērtētā standartnovirze, kas saistīta ar mērījuma rezultātu (*y*), tiek dēvēta par *uc*(*y*) un tiek noteikta, pamatojoties uz aplēstajām standartnovirzēm, kas saistītas ar katru ievades aplēsi (*xi*). Pēc tam šos nenoteiktības elementus no ievades lielumiem kombinē, lai iegūtu kombinēto standarta nenoteiktību *uc*(*y*).

Ja ievades lielumi ir neatkarīgi, *uc*(*y*) nosaka šādi:

Text

Description automatically generated

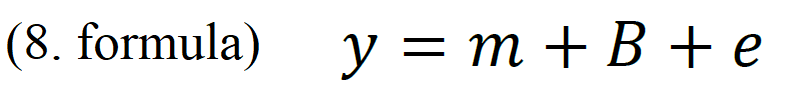
kur *f* ir funkcija, kas nosaka izmērāmo lielumu.

Sīkāka informācija par šīs metodes piemērošanu un ietekmi gadījumos, kad divi vai vairāki ievades lielumi ir savstarpēji saistīti, atrodama *GUM* un citur literatūrā[12, 15].

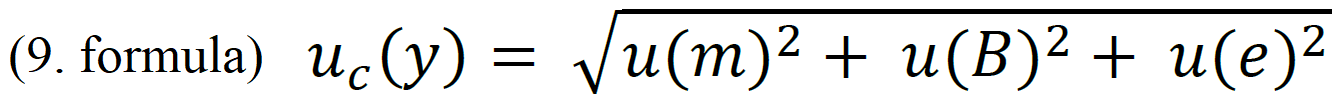
*[Piezīme. Nenoteiktību aprēķins, kas iegūts, izmantojot šo pieeju, norāda dažādu nenoteiktības avotu relatīvo lielumu, bet rada risku, ka netiks ņemts vērā kāds veicinošs faktors, kas var būtiski ietekmēt kopējo MU aplēsi. Tomēr tas ir vērtīgs līdzeklis, lai noteiktu, kur kvantitatīvajā CP ir atrodami galvenie nenoteiktības avoti, un lai noteiktu, kam jāpievēršas, ja ir vēlams samazināt rezultātu vispārējo MU, kas iegūta, izmantojot kvantitatīvo CP.]*

## B. Laboratorijas iekšējo datu pieeja

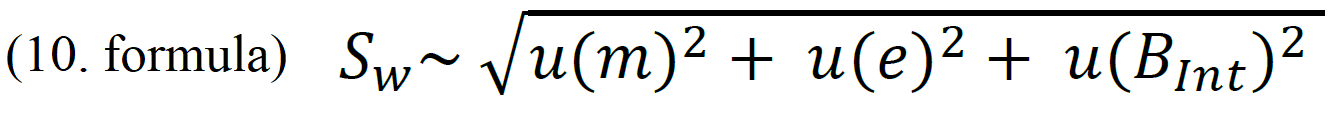
Šajā pieejā pieņem, ka kvantitatīvā *CP* ir veikta laboratorijas iekšējā validācijā, tostarp veicot starpposma precizitātes aplēsi (to dēvē arī par laboratorijas iekšējās atveidojamības vai neprecizitātes aplēsi). Tās pamatā ir trīs komponentu mērīšanas modelis:



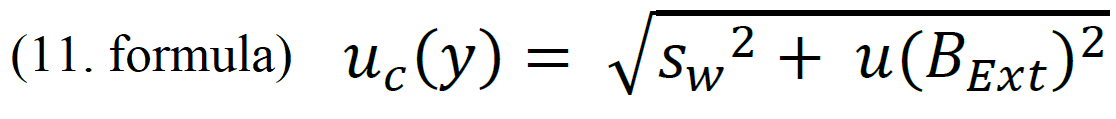
Rezultāts (*y*) ir summa, ko veido mērīšanas metodes vidējais rādītājs (*m*) starpposma precizitātes apstākļos, aplēstā metodes nobīde (*B*) un nejaušas kļūdas ietekme (*e*), kā arī ar rezultātu saistītā *uc*(*y*), ko aprēķina šādi:



Laboratorijas iekšējās rezultātu starpposma precizitātes aplēsi, ko parasti iegūst, izmantojot laboratorijas iekšējās kvalitātes kontroles un metodes validācijas datus, var izteikt kā standartnovirzi (*sw*). Tā iegūst nolūkam atbilstīgu nenoteiktības ietekmes aplēsi no *u(m)* un *u(e)* izteiksmēm un “iekšēji redzamā” nobīdes komponenta (*BInt*).



Ja (*y*) ir vienreizējas analīzes rezultāts, ar rezultātu saistītās standarta nenoteiktības aprēķināšanas vienādojums vienkāršojas līdz šādam:



kur (*y*) ir *n* reizes atkārtotu analīžu vidējais lielums:

Text, letter

Description automatically generated

## Abos gadījumos *BExt* ir aplēstā nobīde, kas netiek ņemta vērā laboratorijas iekšējos pētījumos, un nobīdes radīto nenoteiktību [*ubias* jeb *u(Bext)*] var aplēst, izmantojot šādas formulas[13]:

A picture containing text, watch

Description automatically generated

kur:

*n* – atkārtoto mērījumu skaits, kas veikti paraugam, kurš izmantots kā atsauce (*CRM*, *QC* vai *EQAS* paraugs) un sagatavots noteiktā atšķaidījuma līmenī;

*s* – rezultātu, kas iegūti atkārtotu mērījumu veikšanai atsauces paraugam noteiktā atšķaidījuma līmenī, standartnovirze (*SD*) atkārtojamības apstākļos;

*uref –* atsauces parauga nenoteiktība un



ja informācija ir iegūta, nosakot *nbias* atsevišķas nobīdes, tad *ubias* izsaka kā nobīdes vidējo kvadrātisko vērtību (*RMSbias*).

Text

Description automatically generated

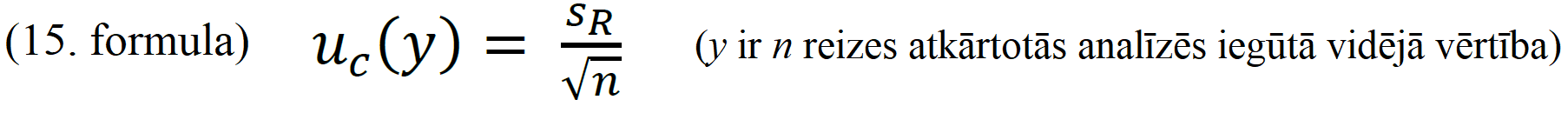
kur:

*nbias* – neatkarīgu nobīdes noteikšanas reižu skaits.

*[Piezīme. Pareizi piemērojot, šī pieeja, tāpat kā citas empīriskās pieejas, ir tikpat derīga kā modelēšanas pieeja, un tai jānodrošina piesardzīga, bet pragmatiska MU aplēse.]*

## C. Starplaboratoriju metodes darbības datu pieeja jeb *EQAS* pieeja

Ja laboratorija ir piedalījusies starplaboratoriju salīdzinājumā, lai novērtētu kvantitatīvo *CP*, vai ir pierādījusi, ka ir pienācīgi īstenojusi tādu literatūrā aprakstīto metodi, kas validēta, izmantojot šādu pieeju, metodes starplaboratoriju atveidojamību (*sR*), kas aprēķināta no salīdzinājuma rezultātiem, var izteikt *SD* veidā un izmantot kā ar šo metodi iegūtā individuālā rezultāta *uc* aplēsi:



Šī pieeja praksē ir piemērojama tikai tad, ja validācijas pētījums ietver starplaboratoriju izmēģinājumu ar vairākiem centriem, kas veikts saskaņā ar iepriekš noteiktu eksperimenta protokolu.

*[Piezīme. Starplaboratoriju pētījumos var novērtēt galvenos mainīguma avotus un iegūt aplēses par metodes atkārtojamības standartnovirzi (sr), atveidojamību (sR) un nobīdi (B) (attiecībā pret zināmo atsauces vērtību). Atveidojamību (sR) var izmantot kā uc aplēsi, kas saistīta ar atsevišķu mērījumu rezultātu, kas iegūts, izmantojot šo kvantitatīvo CP.]*

Dati, kas iegūti, pastāvīgi piedaloties *EQAS*, dažos gadījumos nodrošina iespēju arī aprēķināt dalībnieku izmantoto metožu kopuma darbības raksturlielumu, kuru gadījumā, ja nav pareizi izveidota starplaboratoriju pētījuma, var izmantot kā piesardzīgu aplēsi par konkrētās laboratorijas izmantotās kvantitatīvās *CP* atveidojamību (*sR*).Termins *sR* šajā projektā tiek lietots galvenokārt otrajā nozīmē. Šī aplēse ir derīga tikai gadījumos, kad:

* *EQAS* kārtas dalībnieku norādītās vērtības (pēc traucējošo vielu izslēgšanas) iekļaujas normālā Gausa sadalījumā;
* laboratorijas iekšējā atkārtojamība (*sr*) šai metodei ir mazāka par (<) dalībnieku rezultātu atšķirību (*sr < sR*);
* nenoteiktības ietekme, ko rada *EQAS* parauga nestabilitāte vai neviendabīgums, ir nebūtiska;
* izmantotās matricas precīzi atbilst tām, kas tiek lietotas ikdienas analīzes apstākļos (t. i., *EQAS* materiālu sagatavošanai tiek izmantotas “reprezentatīvas” matricas);
* pētījuma mērķvērtības ietilpst metodes piemērošanas diapazonā;
* laboratorija iegūst apmierinošus rezultātus, veicot minimālu skaitu secīgu analīžu kārtu.

Šajā gadījumā pēc netipisko datu kopas izslēgšanas dalībnieku rezultātu *SD* var izmantot kā aplēsto *uc*, kas saistīta ar rezultātu, kurš iegūts ar šo metodi. Pēc tam šo vērtību var izmantot tā, kā iepriekš aprakstīts attiecībā uz *sR* aplēsi.

*[Piezīme. Saskaņā ar iepriekš teikto atveidojamības (sR) aplēsi var izmantot kā piesardzīgu ar rezultātu saistītās uc aplēsi. Turklāt, piedaloties WADA EQAS, laboratorija var pārbaudīt un pierādīt izvēlētās pieejas derīgumu, aplēšot MU.]*

# 2. Mērījumu nenoteiktības pārbaude

Neatkarīgi no pieejas, ko laboratorija izmanto, lai aplēstu *MU* attiecībā uz rezultātiem, ko tā iegūst, izmantojot konkrētu kvantitatīvo *CP*, ir svarīgi šo *MU* aplēsi validēt un pastāvīgi uzraudzīt tās patiesumu. To var darīt, veicot regulāru salīdzināšanu ar atbilstošu *QC* paraugu, vēlams, ar sertificētu atsauces materiālu (*CRM*), ja tāds ir pieejams, un/vai novērtējot metodes veiktspēju, izmantojot *EQAS* datus.

Laboratorijas aplēsto *MU* konkrētai kvantitatīvajai *CP* var arī pārbaudīt, salīdzinot ar datiem, kas iegūti no atbilstošām *EQAS*, izmantojot *En* skaitli.

Text

Description automatically generated

Ja *xa* ir piešķirtā vērtība *EQAS* pētījumam, *x* ir laboratorijas rezultāts, bet *U(xa)* un *U(x)* attiecīgi ir ar katru rezultātu saistītās paplašinātās nenoteiktības.

Uzraugot |*En*| vērtības, laboratorija laika gaitā iegūst svarīgu rīku, lai novērtētu savu *MU* aplēšu saskaņotību ar kvantitatīvo procedūru un šīs procedūras faktisko veiktspēju. Ja aplēstā *MU* ir vienāda ar *WADA* noteikto *uc\_Max* vai mazāka (≤), uzskata, ka tad, kad |*En*| sadalījums ir:

* tuvs vieniniekam (1) – aplēstā *MU* atbilst laboratorijas *EQAS* darbībai;
* atkārtoti ievērojami mazāks par (<<) vieninieku (1) – aplēstā *MU* varētu būt pārāk liela. Tas parāda, ka vēsturiskā laboratorijas veiktspēja *EQAS* salīdzinājumā ar starplaboratoriju saskaņotajām vērtībām ir labāka, nekā tās aplēstā *MU*. Laboratorijai jāizvērtē nepieciešamība pārvērtēt *MU* attiecībā uz šo konkrēto kvantitatīvo *CP*;
* atkārtoti lielāks par (>) vieninieku (1) – aplēstā *MU*, iespējams, ir pārāk zema, jo laboratorijas veiktspēja *EQAS* ir sliktāka, nekā liecina tās aplēstā *MU*. Šajā gadījumā ir jāpārskata iemesli, kādēļ *En* vērtība ir tik augsta. Vajadzības gadījumā ir jāveic pasākumi, lai atkārtoti novērtētu *MU*.

Ir svarīgi uzsvērt, ka atsevišķas |*En*| vērtības, kas ir lielākas vai mazākas par vieninieku (1), ne vienmēr ir pamats laboratorijai veikt kādas darbības. Tā vietā ir jāuzrauga vērtību vēsture un to tendences.

Katrreiz, kad notiek izmaiņas kvantitatīvajā *CP* (ekstrakcijas posmā, atvasināšanas apstākļos, iekšējā standartā u. c.), ir jāveic procedūras atkārtota validācija un atkārtoti jānovērtē to rezultātu *MU*, kas iegūti ar izmainīto procedūru. Ir jāpārbauda, vai kvantitatīvā *CP* joprojām ir nolūkam atbilstīga (piemēram, laboratorijas aplēstā *MU* attiecībā uz konkrētu kvantitatīvo *CP* ir mazāka par pieļaujamo *uc\_Max*, kas iepriekš norādīta 1. tabulā).

**B PIELIKUMS. Koriģētās *izšķiršanas robežas***

**2. tabula.** Koriģētās *DL* ir aprēķinātas saskaņā ar 5. formulu, pieņemot, ka *SG* > 1,018, un izteiktas, saīsinot līdz trīs (3) nozīmīgajiem cipariem.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | **salbutamols** | **formoterols** | **katīns** | **efedrīns** | **metilēns** | ***PSE*** | **morfijs** | ***C-THC*** |
| *SG* | *SGMax* | **1,20** | **50,0** | **6,00** | **11,0** | **11,0** | **170** | **1,30** | **180** |
| 1,019 | 1,021 | 1,26 | 52,5 | 6,30 | 11,5 | 11,5 | 178 | 1,36 | 189 |
| 1,020 | 1,022 | 1,32 | 55,0 | 6,60 | 12,1 | 12,1 | 187 | 1,43 | 198 |
| 1,021 | 1,023 | 1,38 | 57,5 | 6,90 | 12,6 | 12,6 | 195 | 1,49 | 207 |
| 1,022 | 1,024 | 1,44 | 60,0 | 7,20 | 13,2 | 13,2 | 204 | 1,56 | 216 |
| 1,023 | 1,025 | 1,50 | 62,5 | 7,50 | 13,7 | 13,7 | 212 | 1,62 | 225 |
| 1,024 | 1,026 | 1,56 | 65,0 | 7,80 | 14,3 | 14,3 | 221 | 1,69 | 234 |
| 1,025 | 1,027 | 1,62 | 67,5 | 8,10 | 14,8 | 14,8 | 229 | 1,75 | 243 |
| 1,026 | 1,028 | 1,68 | 70,0 | 8,40 | 15,4 | 15,4 | 238 | 1,82 | 252 |
| 1,027 | 1,029 | 1,74 | 72,5 | 8,70 | 15,9 | 15,9 | 246 | 1,88 | 261 |
| 1,028 | 1,030 | 1,80 | 75,0 | 9,00 | 16,5 | 16,5 | 255 | 1,95 | 270 |
| 1,029 | 1,031 | 1,86 | 77,5 | 9,30 | 17,0 | 17,0 | 263 | 2,01 | 279 |
| 1,030 | 1,032 | 1,92 | 80,0 | 9,60 | 17,6 | 17,6 | 272 | 2,08 | 288 |
| 1,031 | 1,033 | 1,98 | 82,5 | 9,90 | 18,1 | 18,1 | 280 | 2,14 | 297 |
| 1,032 | 1,034 | 2,04 | 85,0 | 10,2 | 18,7 | 18,7 | 289 | 2,21 | 306 |
| 1,033 | 1,035 | 2,10 | 87,5 | 10,5 | 19,2 | 19,2 | 297 | 2,27 | 315 |
| 1,034 | 1,036 | 2,16 | 90,0 | 10,8 | 19,8 | 19,8 | 306 | 2,34 | 324 |
| 1,035 | 1,037 | 2,22 | 92,5 | 11,1 | 20,3 | 20,3 | 314 | 2,40 | 333 |
| 1,036 | 1,038 | 2,28 | 95,0 | 11,4 | 20,9 | 20,9 | 323 | 2,47 | 342 |
| 1,037 | 1,039 | 2,34 | 97,5 | 11,7 | 21,4 | 21,4 | 331 | 2,53 | 351 |
| 1,038 | 1,04 | 2,40 | 100 | 12,0 | 22,0 | 22,0 | 340 | 2,60 | 360 |
| 1,039 | 1,041 | 2,46 | 102 | 12,3 | 22,5 | 22,5 | 348 | 2,66 | 369 |
| 1,040 | 1,042 | 2,52 | 105 | 12,6 | 23,1 | 23,1 | 357 | 2,73 | 378 |

# 8.0. Atsauces

*[WADA ISL, tehnisko dokumentu un laboratoriju vadlīniju aktuālās redakcijas ir atrodamas tīmekļa vietnē https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories.]*

[1] *WADA Technical Document* TD CG/LH: Reporting and Management of Urinary Chorionic Gonadotrophin (hCG) and Luteinizing Hormone (LH) Findings in Male *Athletes*

[2] *WADA Technical Document* TD GH: Human Growth Hormone (hGH) Isoform Differential Immunoassays for *Doping Control* Analyses

[3] *WADA* Laboratory Guidelines on human Growth Hormone Biomarkers Test for *Doping Control* Analyses

[4] The World Anti-Doping *Code International Standard* for Laboratories (ISL)

[5] *WADA Technical Document* TD IDCR: Minimum Criteria for Chromatographic-Mass Spectrometric Confirmation of the Identity of Analytes for *Doping Control* Purposes

[6] The World Anti-Doping *Code International Standard Prohibited List*

[7] *WADA Technical Document* TD MRPL: Minimum Required Performance Levels for Detection and Identification of Non-Threshold Substances by Chromatographic-Mass Spectrometric Analytical Methods

[8] *WADA* Technical Letter TL05: Oxilofrine

[9] *WADA* Technical Letter TL22: Ethylmorphine

[10] ISO/IEC Guide 99:2007. International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM) (2007)

https://www.bipm.org/en/publications/guides/

[11] ISO/IEC 17025:2017. General Requirements for the competence of testing and calibration laboratories (2017)

https://www.iso.org/standard/66912.html

[12] ISO/IEC Guide 98-3:2008. Evaluation of Measurement Data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM) (2008)

http://www.bipm.org/en/publications/guides/

[13] Eurolab Technical Report No. 1/2007. Measurement Uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation (2007)

https://www.eurolab.org/pubs-techreports

[14] NORDTEST Technical Report 537. Handbook for calculation of measurement uncertainty in Environmental Laboratories (2012)

https://www.nordtest.info/images/documents/nt-technicalreports/nt\_tr\_537\_ed3\_1\_English\_Handbook%20for%20Calculation%20of%20Measurement%20uncertainty %20in%20environmental%20laboratories.pdf

[15] Ellison, S.L.R., Williams, A. (Eds). EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd ed. (2012)

https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012\_P1.pdf

[16] ISO 11352:2012, Water quality — Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data

https://www.iso.org/standard/50399.html

[17] ISO 21748:2017, Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation

https://www.iso.org/standard/71615.html