

PASAULES ANTIDOPINGA AĢENTŪRA

Godīga spēle

***WADA* *tehniskais dokuments* – TD2021EAAS**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Dokumenta numurs: | TD2021EAAS | Versijas numurs: | 1.0 |
| Sarakstījusi:Pārskatījusi: | *WADA* zinātnes/EAAS darba grupa*WADA* laboratoriju ekspertu grupa | Apstiprinājusi: | *WADA* izpildkomiteja |
| Datums: | 2020. gada 21. decembris | Spēkā stāšanās diena: | 2021. gada 1. aprīlis |

**Urīna steroīdu profila endogēno anabolisko androgēno steroīdu (EAAS) *marķieru* mērīšana un ziņošana par tiem**

# 1.0. Ievads

Šis *tehniskais dokuments* (*TD*) ir izstrādāts, lai saskaņotu urīna *paraugu* “steroīdu profilu” mērīšanu un ziņošanu par tiem, lai izveidotu *sportista bioloģiskās pases* (*ABP*) steroīdu moduli (steroīdu pasi).

## 1.1. Steroīdu profils

Veicot steroīdu *marķieru* [noteikto endogēno anabolisko androgēno steroīdu (EAAS) koncentrācijas un proporcijas] mērījumus urīna *paraugā*, iegūst šā *parauga* steroīdu profilu (skat. 1. tabulu).

No *sportista* noteiktā laika periodā savāktu urīna *paraugu* sērijas steroīdu profili ir šā *sportista* steroīdu pase.

Ievadot *EAAS* sintētiskās formas, var izmainīt vienu vai vairākus urīna steroīdu profila *marķierus*, tādējādi palielinot vai samazinot konkrētu steroīdu *marķieru* pāru koncentrāciju un/vai proporcijas[1-3]. Šī iedarbība ir pamats steroīdu pases izmantošanai ar mērķi konstatēt EAAS, jo īpaši testosterona (T), tā prekursoru (piemēram, 4-androstenediola, androstenediona un prasterona), tā aktīvo *metabolītu* [dihidrotestosterona (DHT)] vai tā epimēra epitestosterona (E), dopingu.

*ABP* steroīdu modulim tiek izmantots *ADAMS* sistēmas adaptīvais modelis, lai aktivizētu *netipiskus [bioloģiskās] pases parametrus* (*ATPF*), kā rezultātā var tikt izpildītas apstiprināšanas procedūras (*CP*), sākta *sportista* *mērķpārbaude* vai konstatēta *aizliegtas vielas* un/vai *aizliegtas metodes* lietošana saskaņā ar *Kodeksa* 2. panta 2. punktu (skat. *Starptautiskā rezultātu pārvaldības standarta* C pielikumu[4]).

## 1.2. Steroīdu profila noteikšanas procedūra

Katru urīna *paraugu* analizē, lai noteiktu tā steroīdu profilu. *Parauga* steroīdu profila noteikšana un ziņošana par to notiek saskaņā ar divpakāpju procedūru:

i) sākotnējās *pārbaudes* procedūru (*ITP*) veic, lai noteiktu *parauga* steroīdu profilu, un

ii) pēc tam veic *CP*, ja paziņotais steroīdu profils ir *ATPF*, kas konstatēts, izmantojot adaptīvo modeli, vai ja to pieprasa *sportista* pases pārvaldības struktūrvienība (*APMU*), *pārbaudes* iestāde vai *WADA*.

**1. tabula.** Urīna steroīdu profila *marķieri*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ***Marķiera* tips** | **Steroīdu profila *marķieri*** | **Noteikšana** |
| **Steroīdu koncentrācijas līmeņi:** | - androsterons (A);- etioholanolons (*Etio*);- 5α-androstān-3α,17β-diols (*5αAdiol*);- 5β-androstān-3α,17β-diols (*5βAdiol*);- testosterons (T) un- epitestosterons (E). | Laboratorija to nosaka, veicot *GC-MSn* brīvās steroīda daļas un konjugētās daļas, kas izdalās no *E. coli* pēc hidrolīzes ar β-glikuronidāzi, kombinācijai. |
| **Steroīdu proporcijas:** | - T/E; | Saskaņā ar laboratorijas sniegtajiem datiem *ADAMS* sistēmā. |
| - A/T;- A/*Etio*;- *5αAdiol*/*5βAdiol*;- *5αAdiol*/E. | Pēc laboratorijas ziņojuma par steroīdu profilu automātiski aprēķināta *ADAMS* sistēmā no attiecīgās steroīdu koncentrācijas. |

## 1.3. Faktori, kas ietekmē steroīdu profilu

Papildus EAAS ievadīšanas izraisītajām sekām urīna steroīdu profils var mainīties vairāku citu iemeslu dēļ, tostarp to var izraisīt arī šādi faktori[1-3]:

• alkohola (etanola) lietošana;

• citu anabolisko androgēno steroīdu (piemēram, stanozolola) ievadīšana;

• cilvēka horionu gonadotropīna (*hCG*) ievadīšana vīriešiem;

• aromatāzes inhibitoru un antiestrogēnisku vielu ievadīšana;

• 5α-reduktāzes inhibitoru (piemēram, finasterīda vai dutasterīda) ievadīšana;

• ketokonazola vai citu līdzīgu savienojumu (piemēram, flukonazola vai mikonazola) ievadīšana;

• maskējošo līdzekļu (piemēram, probenecīda) un diurētisko līdzekļu lietošana;

• mikrobiālā aktivitāte;

• manipulācijas ar *paraugu*.

**2.0. Sākotnējās *pārbaudes* procedūra (*ITP*)**

## 2.1. *ITP* metodes prasības

Steroīdu profila *marķieru* kvantitatīvās noteikšanas pamatā ir gāzu hromatogrāfija apvienojumā ar masspektrometriju (*GC-MSn*; *n* ≥ 1).

**2. tabula.** *ITP* prasības steroīdu profila *marķieru* kvantitatīvai noteikšanai

|  |
| --- |
| 2.1.1. *ITP* validācijas prasības |
| **Metodes aptvertais koncentrācijas diapazons** | Jāaptver tas *marķiera* koncentrācijas diapazons, kas parasti sastopams vīriešiem un sievietēm. |
| **Enzimātiskā hidrolīze** | Novērtējiet enzimātiskās hidrolīzes efektivitāti, izmantojot β-glikuronidāzi no *E. coli*. |
| **Atvasināšana** | Novērtējiet trimetilsililgrupas (*TMS*) atvasināšanas efektivitāti. |
| **Kvantitatīvās noteikšanas robeža (*LOQ*)** | Metožu validācijas laikā nosaka *LOQ*, kas ir mazākā koncentrācija, kuru iespējams izmērīt, kad *uc* (%) nav lielāka par (≤) 30 %, un tai jāatbilst šādiem kritērijiem:• T, E ≤ 1 ng/ml;• *5αAdiol*, *5βAdiol* ≤ 10 ng/ml;• A, *Etio* ≤ 500 ng/ml. |
| **Mērījuma nenoteiktība, *uc* (%)** | **Līmenis** | **A** | ***Etio*** | **T** | **E** | **Adioli****(*5α*, *5β*)** | **T/E** |
| Aplēstā *uc* (%) nav lielāka par (≤) *uc\_Max* (%) vērtību, kas norādīta turpmāk tekstā |
| ***LOQ*** | ≤ 30 % |  |
| **5 x *LOQ*** | ≤ 20 % | ≤ 25 % |  |
| **(T, E) ≤ 1 ng/ml** |  | ≤ 15 % |
| **(T, E) ≤ 5 ng/ml** |  | ≤ 30 % |
| 2.1.2. *ITP* analīzes prasības |
| ***Paraugs*** | Steroīdu profila *marķieru* kvantitatīvai noteikšanai *ITP* veic, izmantojot vienu alikvotu. Nepieciešamības gadījumā alikvotas lielumu var koriģēt atkarībā no tās īpatnējā svara (*SG*) un *sportista* dzimuma. |
| **Kalibrēšana** | Katrā analīzes virknē iekļauj kalibrēšanas standartu(-us) vai kalibrēšanas līkni. |
| **Kvalitātes kontrole** | Katrā analīzes virknē iekļauj vismaz divus (2) urīna kvalitātes kontroles (KK) paraugus, kuros ir zema un augsta reprezentatīvā steroīdu profila *marķieru* koncentrācija. |
| **Enzimātiskā hidrolīze** | Glikurokonjugēto urīna steroīdu hidrolīzei izmanto attīrītu β-glikuronidāzi no *E. coli*, un katrā alikvotā uzrauga hidrolīzes pilnīgu pabeigšanu, izmantojot ar izotopu apzīmētu A-glikuronīdu (vai līdzvērtīgu zinātniski atzītu alternatīvu).Neizmanto *H. pomatia* maisījumus. |
| **Atvasināšana** | Steroīdu profila *marķierus* analizē kā *TMS* atvasinājumus (*TMS* enolēterus un/vai *TMS* ēterus).Atvasināšanas pilnīgu pabeigšanu kontrolē katrā alikvotā, uzraugot A *mono-O-TMS* un *di-O-TMS* atvasinājumu. |
| **T/E proporcija** | T/E proporciju nosaka, ņemot vērā hromatogrāfiskās smailes laukumu vai smailes augstumu proporcijas pēc korekcijas ar kalibratoru vai kalibrēšanas līkni. |
| **Faktori, kas ietekmē steroīdu profilu** | Laboratorija:• uzrauga mikrobiālās aktivitātes pazīmes [piemēram, 3α-hidroksisteroīda dehidrogenāzes (*HSD*) aktivitātes rādītāju klātbūtni];*[Piezīme. Urīna paraugu tiešā enzimātiskā hidrolīze var palielināt mikrobioloģiskā piesārņojuma ietekmi.]*• pārbauda konjugētā(-o) etanola(-u) *metabolīta(-u)* [piemēram, etanola glikuronīda (*EtG*)], 5α-reduktāzes inhibitoru (piemēram, finasterīda un dutasterīda) un ketokonazola (un līdzīgu vielu) klātbūtni. |

## 2.2. Ziņošana par *ITP* laikā iegūto *parauga* steroīdu profilu

Pēc *ITP* veikšanas laboratorija *ADAMS* sistēmā paziņo katra analizētā *parauga* steroīdu profilu.

Laboratorija *ADAMS* sistēmā paziņo:

i) *parauga* īpatnējo svaru, ko noteikusi laboratorija (skat. *TD DL*[5]);

ii) nekoriģēto T, E, A, *Etio*, *5αAdiol* un *5βAdiol* koncentrāciju un T/E proporciju;

*[Piezīme. Ja, piemēram, atšķaidījuma, neraksturīgu matricas traucējumu, enzimātiskās hidrolīzes inhibīcijas vai nepilnīgas atvasināšanas dēļ ITP steroīdu profila marķiera daudzumu nav iespējams izmērīt, laboratorijai ir jāatkārto analīze, izmantojot alternatīvu parauga sagatavošanas procedūru (piemēram, mainot alikvotas lielumu, veicot cietās fāzes ekstrakciju vai veicot ekstrakciju ar citu šķīdinātāju).*

*Ja tomēr steroīdu profila marķiera daudzumu nav iespējams noteikt, ziņo, ka šā marķiera koncentrācija ir “-1”. Laboratorija pārbaudes ziņojumā norāda, kāpēc nebija iespējams noteikt šā marķiera daudzumu (piemēram, “< LOQ, nepilnīga atvasināšana”).*

*Ja nav iespējams noteikt marķiera hromatogrāfiskās smailes signālu (t. i., tas ir zemāks, nekā ir iespējams konstatēt ar pārbaudes metodi), ziņo, ka šā marķiera koncentrācija ir “-2” (informāciju par ziņošanu par konkrētām situācijām attiecībā uz [T], [E] un T/E skat. 3. tabulā).*

*Laboratorija pēc pārbaudes iestādes, rezultātu pārvaldības iestādes vai APMU pieprasījuma var sniegt arī informāciju par citiem steroīdu parametriem, piemēram, par prasteronu (DHEA), dihidrotestosteronu (DHT) un 6α-hidroksi-androstenedionu (6α-OH-AD).]*

iii) jebkuras mikrobiālās aktivitātes pazīmes *paraugā*, piemēram, 5α-androstāndiona (*5αAND*) attiecību pret A un 5β-androstāndiona (*5βAND*) attiecību pret *Etio*, kas noteikta, pamatojoties uz attiecīgajām steroīdu koncentrācijām;

iv) tādas(-u) vielas(-u) klātbūtni vai neesību *paraugā*, kas var izmainīt steroīdu profilu (skat. 1. panta 3. punktu). Laboratorija ziņo aplēsto līmeni šādām vielām:

• *EtG*, ja ≥ 5 μg/ml;

• karboksi-finasterīdam, ja ≥ 5 ng/ml;

• 4-hidroksi- un/vai 6-hidroksi-dutasterīdam, ja ≥ 5 ng/ml;

• ketokonazolam, ja ≥ 100 ng/ml;

• flukonazolam, ja ≥ 500 ng/ml;

• mikonazolam, ja ≥ 1000 ng/ml.

2.2.1. *Parauga* steroīdu profila derīgums

Pēc steroīdu profila paziņošanas *ADAMS* sistēmā tiek automātiski noteikts *parauga* derīgums. *Paraugs* ir nederīgs tikai tad, ja *paraugā* novēro pārmērīgas degradācijas pazīmes, ko nosaka pēc šādiem parametriem:

• *5αAND*/A ≥ 0,1 un/vai

• *5βAND*/*Etio* ≥ 0,1.

*[Piezīme. Turklāt pēc tam, kad laboratorija steroīdu profilu ir paziņojusi ADAMS sistēmā, APMU pēc steroīdu profila datu izvērtēšanas var novērtēt paraugu kā “nederīgu”, piemēram, ņemot vērā tādu vielu klātbūtni, kuras var izmainīt parauga steroīdu profilu.]*

**3. tabula.** Nosacījumi attiecībā uz ziņošanu par T un E koncentrāciju un T/E proporciju

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **T koncentrācija** | **E koncentrācija** | **T/E proporcija** |
| Izmērītais T hromatogrāfiskās smailes signāls atbilst *LOQ* vai ir augstāks (≥).[T] ≥ *LOQ*(T)**Ziņo, ka T ir izmērīts** | Izmērītais E hromatogrāfiskās smailes signāls atbilst *LOQ* vai ir augstāks (≥).[E] ≥ *LOQ*(E)**Ziņo, ka E ir izmērīts**. | **Paziņo T/E**(ko noteikusi laboratorija, pamatojoties uz koriģētu smailes augstumu/laukumu) |
| E hromatogrāfiskās smailes signāls ir konstatēts, taču tas ir zemāks nekā (<) *LOQ*.*LOD*(E) ≤ [E] < *LOQ*(E)**Ziņo, ka E ir “-1”** |
| E hromatogrāfiskās smailes signāls nav konstatēts.[E] < *LOD*(E)**Ziņo, ka E ir “-2”** | **Ziņo, ka T/E ir “-1”**Paziņo *LOD*(E)*Piezīme ADAMS sistēmā:**“T/E proporciju nebija iespējams precīzi izmērīt, jo E nebija iespējams konstatēt.”* |
| T hromatogrāfiskās smailes signāls ir konstatēts, taču tas ir zemāks nekā (<) *LOQ*.*LOD*(T) ≤ [T] < *LOQ*(T)**Ziņo, ka T ir “-1”** | Izmērītais E hromatogrāfiskās smailes signāls atbilst *LOQ* vai ir augstāks (≥).[E] ≥ *LOQ*(E)**Ziņo, ka E ir izmērīts** | **Paziņo T/E**(ko noteikusi laboratorija, pamatojoties uz koriģētu smailes augstumu/laukumu) |
| *E* hromatogrāfiskās smailes signāls ir noteikts, taču tas ir zemāks nekā (<) *LOQ*.*LOD*(E) ≤ [E] < *LOQ*(E)**Ziņo, ka E ir “-1”** |
| E hromatogrāfiskās smailes signāls nav konstatēts.[E] < *LOD*(E)**Ziņo, ka E ir “-2”** | **Ziņo, ka T/E ir “-1”***Piezīme ADAMS sistēmā:**“T/E proporciju nebija iespējams precīzi noteikt, jo nebija iespējams noteikt T koncentrāciju un konstatēt E.”* |
| T hromatogrāfiskās smailes signāls nav noteikts.[T] < *LOD*(T)**Ziņo, ka T ir “-2”** | Izmērītais E hromatogrāfiskās smailes signāls atbilst *LOQ* vai ir augstāks (≥).[E] ≥ *LOQ*(E)**Ziņo, ka E ir izmērīts** | **Ziņo, ka T/E ir “-1”**Paziņo *LOD*(T)*Piezīme ADAMS sistēmā:**“T/E proporciju nebija iespējams precīzi noteikt, jo T nebija iespējams konstatēt.”* |
| E hromatogrāfiskās smailes signāls ir noteikts, taču tas ir zemāks nekā (<) *LOQ*.*LOD*(E) ≤ [E] < *LOQ*(E)**Ziņo, ka E ir “-1”** | **Ziņo, ka T/E ir “-1”**Paziņo *LOD*(T)*Piezīme ADAMS sistēmā:**“T/E proporciju nebija iespējams noteikt, jo T nebija iespējams konstatēt un E nebija iespējams izmērīt.”* |
| E hromatogrāfiskās smailes signāls nav konstatēts.[E] < *LOD*(E)**Ziņo, ka E ir “-2”** | **Ziņo, ka T/E ir “-2”**Paziņo *LOD*(E) un *LOD*(T)*Piezīme ADAMS sistēmā:**“T/E proporciju nebija iespējams noteikt, jo T un E nebija iespējams konstatēt.”* |

# 3.0. Apstiprināšanas procedūras (*CP*)

EAAS *marķieru* *CP* ietver *GC-MSn* (*n* ≥ 1) identifikāciju (saskaņā ar *TD IDCR*[6]) un kvantitatīvo noteikšanu, kā arī steroīdu profila *marķiera(-u)* *GC*/*C*/*IRMS* analīzi[7].

Turklāt laboratorija apstiprina steroīdu profilu ietekmējošu faktoru esību vai neesību (skat. 1. panta 3. punktu).

## 3.1. *CP* pieprasījumi (*CPR*)

3.1.1. *CPR*, kas iesniegti *ADAMS* sistēmā *netipisku [bioloģiskās] pases parametru* (*ATPF*) gadījumā

Kad *parauga* steroīdu profila dati ir ievadīti *ADAMS* sistēmā un saskaņoti ar *sportistu*, adaptīvais modelis automātiski atjaunina steroīdu pasi. Ja *ATPF* tiek identificēti, pamatojoties uz anormāli augstu T/E vērtību, tiek ierosināts *CP* pieprasījums (*ATPF-CPR*), ko *ADAMS* sistēmā automātiski nosūta laboratorijām.

Saņemot *ATPF-CPR*, laboratorija pēc iespējas drīz veic steroīdu profila *CP*, ja vien *paraugā* nav konstatēta etanola klātbūtne vai nepastāv citi faktori, kas ietekmē steroīdu profilu. Šādos gadījumos laboratorija piecpadsmit (15) dienu laikā pēc paziņojuma par *ATPF-CPR* saņem par pasi atbildīgās organizācijas vai *pārbaudes* iestādes (vai *rezultātu pārvaldības* iestādes, ja tā atšķiras) ieteikumu par to, vai turpināt vai neturpināt *parauga* steroīdu profila *CP*.

*[Piezīme. Ja piecpadsmit (15) dienu laikā pēc paziņojuma par ATPF-CPR saņemšanas par pasi atbildīgā organizācija vai pārbaudes iestāde (vai rezultātu pārvaldības iestāde) nav sazinājusies ar laboratoriju, laboratorija turpina steroīdu profila CP (skat. 3. panta 2. punktu).]*

Jebkurš par pasi atbildīgās organizācijas vai *pārbaudes* iestādes (vai *rezultātu pārvaldības* iestādes) pamatojums *CP* neturpināšanai ir jāsniedz rakstveidā un saskaņā ar *TD APMU*[8].

*[Piezīme. Gadījumos, kad par pasi atbildīgā organizācija vai pārbaudes iestāde (vai rezultātu pārvaldības iestāde) laboratorijai dod norādījumus neveikt CP, laboratorija attiecībā uz paraugu atjaunina ADAMS pārbaudes ziņojumu, tajā pievienojot piezīmi par to, ka par pasi atbildīgā organizācija vai pārbaudes iestāde (vai rezultātu pārvaldības iestāde) lūdza neveikt CP, un norādot minētos iemeslus.]*

Ja laboratorija saņem *ATPF-CPR* par *paraugu*, par ko ir paziņots(-i) *nelabvēlīgs(-i) analīžu rezultāts(-i)* (*AAF*) attiecībā uz citu(-ām) *aizliegtu(-ām) vielu(-ām)* vai *metodi(-ēm)*, laboratorija apspriežas ar *pārbaudes* iestādi (vai *rezultātu pārvaldības* iestādi, ja tā atšķiras) par nepieciešamību veikt steroīdu profila *marķieru* *CP*.

3.1.2. *APMU*, *pārbaudes* iestādes (vai attiecīgā gadījumā *rezultātu pārvaldības* iestādes) vai *WADA* iesniegti *CPR*

Adaptīvais modelis noteiks arī citu “steroīdu profila” proporciju anormālas vērtības vai sekvences (A/T, A/*Etio*, *5αAdiol*/*5βAdiol* un *5αAdiol*/E). Tomēr šādos gadījumos laboratorija *ADAMS* sistēmā nesaņems automātisku “*ATPF*-*CPR*” paziņojumu. Tā vietā *APMU* sniegs ieteikumus *pārbaudes* iestādei (vai attiecīgā gadījumā *rezultātu pārvaldības* iestādei, ja tā atšķiras) par to, vai *paraugam* jāveic *CP*. Tāpēc šajos gadījumos laboratorija turpina *CP* tikai pēc tam, kad tā ir saņēmusi rakstveida pieprasījumu no *pārbaudes* iestādes (vai *rezultātu pārvaldības* iestādes, ja tā atšķiras).

Ja nav *ATPF-CPR*, *CP* pieprasījumus var iesniegt arī *pārbaudes* iestāde (vai *rezultātu pārvaldības* iestāde, ja tā atšķiras), *APMU*\* vai *WADA*.

\* Ja attiecīgais *APMU* klients ir piekritis piešķirt *APMU* šādas pilnvaras.

## 3.2. *CP* pārbaudes metodes

3.2.1. Steroīdu profila *marķieru* *CP*, izmantojot *GC-MSn*

Laboratorija kvantitatīvi nosaka visus steroīdu profila *marķierus* vienā alikvotā, izmantojot validētu un nolūkam atbilstīgu *GC-MSn* (*n* ≥ 1) kvantifikācijas metodi. Identificē arī tos *CP* *marķierus* (saskaņā ar *TD IDCR*[6]), kuru dēļ tika sākta *CP*.

• Ikvienā gadījumā pirms *GC/C/IRMS* analīzes uzsākšanas laboratorija kvantitatīvi apstiprina visus steroīdu profila *marķierus*.

*[Piezīme. Šo prasību nepiemēro, ja pārbaudes iestāde (vai attiecīgi rezultātu pārvaldības iestāde) ir pilnvarojusi laboratoriju uzreiz sākt GC/C/IRMS analīzi, neprasot steroīdu marķieru kvantitatīvu apstiprināšanu (piemēram, ierobežota parauga apjoma gadījumā).*

*Attiecībā uz T/E vērtībām ir jāapstiprina tikai T, ja E nekonstatē vai parauga apjoms nav pietiekams.]*

Tāda *ATPF-CPR* gadījumā, kas ir saistīts ar anormāli augstu T/E proporciju, *GC/C/IRMS* analīze nav obligāta, ja apstiprinātā T/E vērtība ir zemāka par T/E apstiprināšanas robežu, kas aprēķināta, izmantojot adaptīvo modeli, un ir norādīta *ATPF-CPR* paziņojumā, kas saņemts no *ADAMS* sistēmas.

• Attiecībā uz citiem *CP* pieprasījumiem, ja steroīdu profila *CP* netiek apstiprinātas tās *ITP* vērtības, kuru dēļ šī *CP* tika sākta (piemēram, *5αAdiol*/E vērtība), ņemot vērā mērījuma paplašināto nenoteiktību (*U*95 %, *k* = 2), laboratorija apspriežas ar *pārbaudes* iestādi, lai noteiktu, vai *GC/C/IRMS* analīze ir nepieciešama. Ja uzskata, ka *GC/C/IRMS* analīze nav nepieciešama, laboratorija atjaunina *ADAMS* ziņojumu par *paraugu*, ievadot visas apstiprinātās steroīdu profila *marķieru* vērtības, un pievieno piezīmi, kurā norāda, ka *GC/C/IRMS* analīze nebija nepieciešama.

*[Piezīme. Attiecībā uz citām proporcijām, kas nav T/E, proporcijas uc (%) aprēķina, izplatot attiecīgo marķieru koncentrāciju nenoteiktību.]*

Tās pašas analītiskās prasības, kas norādītas 2. tabulā attiecībā uz *ITP*, attiecas arī uz *GC-MSn CP* ar šādām izmaiņām:

• *GC-MSn CP* validācijas prasības:

- A, *Etio*, *5αAdiol* un *5βAdiol* noteikšanai *uc* (%) nedrīkst pārsniegt (≤) 15 %, ja koncentrācija ir piecas reizes (5 x) lielāka nekā attiecīgā *LOQ* vērtība;

- lai noteiktu T, E un T/E proporcijas, *uc* (%) nedrīkst pārsniegt (≤) 15 %, ja T un E koncentrācija ir lielāka nekā (>) 5 ng/ml;

• *GC-MSn CP* analīzes prasības:

- cietās fāzes ekstrakciju (*SPE*) veic pirms *parauga* enzimātiskās hidrolīzes;

- iekļauj kalibrēšanas standartu(-us) un vismaz divus (2) urīna KK paraugus, kuros ir reprezentatīvi zems un reprezentatīvi augsts steroīdu profila *marķieru* līmenis.

3.2.2. *GC/C/IRMS CP*

Tehniskās un ziņošanas prasības *GC/C/IRMS CP* ir noteiktas *TD IRMS*[7].

Ja tiek paziņots par steroīdu profila *marķiera(-u)* *AAF*, pamatojoties uz rezultātiem, kas iegūti *parauga* “A” daļai veiktā *GC/C/IRMS* analīzē, *parauga* “B” daļas *CP* laikā atkārtoti veic tikai *GC/C/IRMS* analīzi, tostarp identificē attiecīgos *marķierus* (mērķa savienojumus un endogēnos atsauces savienojumus).

## 3.3. *CP* rezultātu paziņošana

3.3.1. *Parauga* “A” daļa

Pēc *parauga* “A” daļas steroīdu profilam veiktās *CP* laboratorija *ADAMS* sistēmā paziņo šādus datus:

i) *parauga* *SG* (kas noteikts jaunai *parauga* “A” daļas alikvotai);

ii) steroīdu profila *marķieru* apstiprinātās vērtības (koncentrācijas līmeņi, T/E vērtība), neveicot korekcijas atbilstoši *parauga* *SG*;

iii) saistīto *uc* (kas izteikta mērvienībās);

iv) *GC/C/IRMS* apstiprināšanas rezultātus, ja tā ir veikta (skat. 3. panta 2. punkta 1. un 2. apakšpunktu un *TD IRMS*[7]). Pamatojoties uz *GC/C/IRMS* *CP* rezultātiem, laboratorija *ADAMS* sistēmā atjaunina *parauga* pārbaudes ziņojumu (norādot *AAF*, netipisku atradi (*ATF*) vai negatīvu rezultātu);

v) apstiprinātos rezultātus attiecībā uz mikrobiālās aktivitātes pazīmēm (klātbūtne/neesība): *5αAND*/A, *5βAND*/*Etio* un T*free*/T*total*, pamatojoties uz koncentrācijām;

*[Piezīme. Paraugu (parauga steroīdu profilu) atzīst par nederīgu ne tikai tad, ja tiek noteiktas mikrobioloģisko piesārņojumu apliecinošas 5αAND/A un 5βAND/Etio proporcijas, bet arī tad, ja CP laikā konstatē paaugstinātu brīvā testosterona attiecību pret kopējo testosteronu (Tfree/Ttotal > 0,05). Tomēr tas nav iemesls, lai neveiktu GC/C/IRMS CP vai neatzītu par nederīgiem tās rezultātus.]*

vi) vielas(-u) klātbūtni vai neesību *paraugā(-os)*, kas nav *AAF*, bet var izmainīt steroīdu profilu (skat. 1. panta 3. punktu); ja to konstatē *paraugā*, laboratorija ziņo par apstiprināto aplēsto *EtG*, 5α-reduktāzes inhibitoru un -azolu līmeni saskaņā ar 2. panta 2. punkta 1. apakšpunktu (bez nepieciešamības paziņot šo vielu noteikšanas *uc*).

3.3.2. *Parauga* “B” daļa

Pēc steroīdu profila *GC/C/IRMS* *CP* veikšanas *parauga* “B” daļai laboratorija *ADAMS* sistēmā paziņo *GC/C/IRMS* apstiprināšanas rezultātus (skat. 3. panta 3. punkta 1. apakšpunktu un *TD IRMS*[7]).

*[Piezīme. Ja attiecībā uz paraugu nav paziņots par steroīdu profila marķiera(-u) AAF, pamatojoties uz GC/C/IRMS analīzes rezultātiem, bet ir pieprasīta GC-MSn steroīdu profila CP parauga “B” daļai, laboratorija ADAMS sistēmā paziņo parauga “B” daļas steroīdu profila apstiprinājuma rezultātus, kā aprakstīts attiecībā uz parauga “A” daļu 3. panta 3. punkta 1. apakšpunktā.]*

**4.0. Ziņošana par manipulācijām ar *paraugu* (*falsifikācija* vai *falsifikācijas mēģinājums*)**

*Falsifikācijas* vai *falsifikācijas mēģinājuma* mērķis ir mainīt *dopinga kontroles* laikā savākto *paraugu* integritāti un derīgumu, tostarp arī aizstājot *paraugu* ar citu šķidrumu un apmainot un/vai viltojot urīnu (piemēram, pievienojot *paraugam* proteāzes).

*[Piezīme. Sportista urīna parauga aizstāšanu ar citas personas urīnu (urīna apmaiņu) var atklāt, izmantojot steroīdu pasi, un apstiprināt, veicot vairāku paraugu DNS analīzi saskaņā ar TD APMU[8].]*

Ja *paraugs* neatbilst cilvēka urīnam (piemēram, *SG* ≤ 1,001, kreatinīns ≤ 5 mg/dl[9], fizioloģiskai izcelsmei neatbilstīga sāls koncentrācija, anormālas pH vērtības, endogēno steroīdu, kortikosteroīdu, proteīnu neesība vai neraksturīgi zems līmenis u. c.), laboratorija:

i) ziņo par rezultātu kā par *AAF* saistībā ar *falsifikāciju* vai *falsifikācijas mēģinājumu* (*Aizliegto vielu un metožu saraksta* M2.1. klase), ja laboratorija spēj vispārīgi noteikt viltotā *parauga*, kas nav saderīgs ar cilvēka urīnu, veidu/tipu (piemēram, ūdens, dzēriens vai mākslīgais urīns),

VAI

ii) ziņo par rezultātu kā par *AAF* saistībā ar *falsifikāciju* vai *falsifikācijas mēģinājumu* un pievieno piezīmi *ADAMS* sistēmā, iesakot *pārbaudes* iestādei veikt papildu izmeklēšanu (piemēram, *parauga* papildu analīzes vai *sportista mērķpārbaudi*).

# 5.0. Atsauces

[1] Mareck U *et al*. Factors influencing the steroid profile in doping control analysis. *J Mass Spectrom*. **43**(7):877-91, 2008.

[2] Ayotte C. Detecting the administration of endogenous anabolic androgenic steroids. *Handb Exp Pharmacol.* **195**:77-98, 2010.

[3] Kuuranne T, Saugy M, Baume N. Confounding factors and genetic polymorphism in the evaluation of individual steroid profiling. *Br J Sports Med*. **48**(10): 848-55, 2014.

[4] The World Anti-Doping *Code International Standard* for *Results Management*.

[5] *WADA Technical Document* TD DL: *Decision Limits* for the Confirmatory Quantification of Exogenous Threshold Substances by Chromatography-based Analytical Methods.

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

[7] *WADA Technical Document* TD IRMS: Detection of Synthetic Forms of *Prohibited Substances* by GC/C/IRMS.

[8] *WADA Technical Document* TD APMU: *Athlete* Passport Management Unit – Requirements and Procedures.

[9] Cook J D *et al*. The Characterization of Human Urine for Specimen Validity Determination in Workplace Drug Testing: A Review. *J Anal Toxicol* **24**: 579-588, 2000

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