|  |  |
| --- | --- |
|  | **PASAULES ANTIDOPINGA AĢENTŪRA**  Godīga spēle |

***WADA* tehniskais dokuments – TD2019MRPL**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Dokumenta numurs: | TD2019MRPL | Versijas numurs: | 1.0 |
| Sarakstījusi: | *WADA* Laboratoriju ekspertu grupa | Apstiprinājusi: | *WADA* izpildkomiteja |
| Datums: | 2019. gada 15. maijs | Spēkā stāšanās diena: | 2019. gada 15. maijs |

# MINIMĀLIE PRASĪTIE VEIKTSPĒJAS LĪMEŅI, KO PIEMĒRO, LAI NOTEIKTU UN IDENTIFICĒTU VIELAS, KAS NAV SLIEKŠŅA VIELAS

## Lai nodrošinātu, ka visas *WADA* akreditētās laboratorijas var vienādi ziņot par *aizliegto vielu*, to *metabolīta(-u)* vai *marķiera(-u)* klātbūtni, pārbaudes metodēm ir izstrādāta minimālā parastā noteikšanas un identificēšanas spēja. Ir atzīts, ka dažas laboratorijas spēs identificēt zemāku *aizliegto vielu* koncentrāciju nekā citas laboratorijas. Lai gan nolūkā uzlabot sistēmu kopumā šādas atsevišķas spējas tiek atbalstītas, tāpat ir atzīts, ka pastāv minimālie prasītie veiktspējas līmeņi (*MRPL*), kas ir jāievēro visām laboratorijām (1. tabula).

**1.0. Minimālie prasītie veiktspējas līmeņi (*MRPL*)**

*MRPL* ir izstrādāts, lai saskaņotu tādu metožu analītisko veiktspēju, kuras izmanto, lai noteiktu vielas, kas nav sliekšņa vielas. *MRPL* ir obligāts tehniskās veiktspējas analītiskais parametrs, ko izstrādājusi *WADA* un kas laboratorijām ir jāievēro, pārbaudot konkrētas *aizliegtās vielas*, tās *metabolīta(-u)* vai *marķiera(-u)* klātbūtni. *MRPL* ir *aizliegtās vielas* vai *aizliegtās vielas* *metabolīta*, vai *aizliegtās vielas* *marķiera*, vai *aizliegtās metodes* minimālā koncentrācija, ko laboratorijas spēj uzticami noteikt un identificēt, veicot kārtējās ikdienas darbības.

* + - *MRPL* nav ne robežvērtība (*T*), ne arī noteikšanas robeža (*LOD*). *Nelabvēlīgus analīžu rezultātus* var iegūt arī tad, ja koncentrācija ir zemāka par noteiktajām *MRPL* vērtībām.
    - *MRPL* vērtības ir būtiskas vielu, kas nav sliekšņa vielas, noteikšanai un identificēšanai; tās nepiemēro attiecībā uz sliekšņa vielām, kas aplūkotas citos tehniskajos dokumentos (*piemēram, TD DL*[[1]](#footnote-1), *TD GH*[[2]](#footnote-2)).
    - *MRPL* vērtības ir noteiktas, ņemot vērā *aizliegtās vielas* metabolismu, noturīgumu, farmakokinētiku un farmakodinamiku. Tāpēc vielām, kurām ir ilgstoša dopinga iedarbība un kuras ir aizliegtas vienmēr (*piemēram,* anaboliskie steroīdi), būs zemākas *MRPL* vērtības nekā vielām, kuras lieto, lai panāktu tūlītēju ergogēnisku iedarbību, un kuras ir aizliegtas tikai *sacensību laikā* (*piemēram,* stimulējošie līdzekļi).
    - *MRPL* ir noteikts tieši *aizliegtajai vielai* un/vai tās *metabolītam(-iem)*, *marķierim(-iem)* vai noārdīšanās produktam(-iem) atkarībā no to metabolisma un/vai noturīguma *parauga* matricā.

## Tā kā *aizliegto vielu* metabolisma un ekskrēcijas veidi pēc ievadīšanas laika gaitā var ievērojami mainīties, ir svarīgi, ka laboratorijas attiecīgās analizējamās mērķa vielas iekļauj analītiskajās pārbaudes procedūrās, lai nodrošinātu visplašākās iespējas *aizliegtās vielas* noteikšanai.

**1. tabula. *MRPL*, ko piemēro, lai cilvēka urīnā noteiktu vielas, kas nav sliekšņa vielas**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Aizliegto vielu klase** | **Konkrēti piemēri/izņēmumi** | ***MRPL***(a) |
| **S1.1a. Eksogēnie anaboliskie androgēnie steroīdi (AAS)** |  | 5 ng/ml |
|  | Dehidrohlormetiltestosterons | 2 ng/ml |
|  | Metandienons | 2 ng/ml |
|  | 17α-metiltestosterons | 2 ng/ml |
|  | Stanozolols | 2 ng/ml |
| **S1.1b. Endogēnie AAS, ja tos ievada eksogēni** | 19-norandrosterons (19-NA)(b)  19-noretioholanolons (19-NE)(b)  Boldenons(c) | 2 ng/ml  5 ng/ml |
| **S1.2. Citi anaboliskie līdzekļi** |  | 2 ng/ml |
|  | Klenbuterols | 0,2 ng/ml |
| **S2.1.2. *HIF* aktivatori** | Molidustats  Roksadustats (FG-4592) | 2 ng/ml |
| **S2.2.1. Gonadotropīna (*CG/LH*) atbrīvotājfaktori**(d) | Buserelīns, deslorelīns, gonadorelīns, goserelīns, leiprolīns, nafarelīns, triptorelīns | 2 ng/ml |
| **S2.2.3. Augšanas hormons (*GH*), tā fragmenti un atbrīvotājfaktori**:   * *GH* fragmenti;(d) * *GH* atbrīvotājhormons (*GHRH*) un tā analogi; * *GH* sekrēcijas stimulatori (*GHS*);(d) * *GH* atbrīvotājpeptīdi (*GHRP*).(d) | *AOD9604*, *hGH 176-191*  *CJC-1295*, *CJC-1293*, sermorelīns, tesamorelīns  Anamorelīns, ipamorelīns, tabimorelīns  Aleksamorelīns, *GHRP*-1, -2, -3, -4, -5 un -6; heksarelīns | 2 ng/ml  1 ng/ml  2 ng/ml  2 ng/ml |
| **S2.3. Augšanas faktori un augšanas faktoru modulatori** | *TB-500* (*N-Ac LKKTETQ*)(d) | 2 ng/ml |
|  |  |  |
| **S3. Bēta-2-agonisti**(e) |  | 20 ng/ml |
|  |  |  |
|  | Aromatāzes inhibitori, *SERM* un citas antiestrogēniskas vielas | 20 ng/ml |
| **S4. Hormoni un vielmaiņas modulatori** | Formestāns(f)  Meldonijs  Insulīns | 50 ng/ml  200 ng/ml  50 ng/ml |
| **S5. Diurētiskie līdzekļi un maskējošie līdzekļi** |  | 200 ng/ml |
|  | Desmopresīns un tā analogi(d) | 2 ng/ml |
| **S6. Stimulējošie līdzekļi**(g) |  | 100 ng/ml |
|  | Oktopamīns | 1000 ng/ml |
| **S7. Narkotiskās vielas**(h) |  | 50 ng/ml |
|  | Buprenorfīns | 5 ng/ml |
|  | Fentanils (un tā atvasinājumi) | 2 ng/ml |
| **S8. Kanabimimētiskie līdzekļi**(i) |  | 1 ng/ml |
| **S9. Glikokortikoīdi** |  | 30 ng/ml |
|  | Budesonīds (6β-hidroksi-budesonīds)(j) | 30 ng/ml |
| **P1. Bēta blokatori** |  | 100 ng/ml |

a) Jebkurā gadījumā *MRPL* piemēro sākumsavienojumam vai attiecīgajam(-iem) *metabolītam(-iem)* vai *marķierim(-iem)*, ņemot vērā katras vielas biotransformācijas ceļus, ekskrēcijas profilu un/vai noturīgumu *parauga* matricā.

b) Metodes, ko piemēro, lai noteiktu 19-norsteroīdu atrades un ziņotu par tām, ir aplūkotas tehniskajā dokumentā par 19-NA (*TD NA*).[[3]](#footnote-3)

c) *GC/C/IRMS* analīzi veic pirms ziņošanas par *nelabvēlīgiem analīžu rezultātiem* *paraugos*, kuros boldenona un/vai tā *metabolīta(-u)* daudzums ir diapazonā no 5 ng/ml līdz 30 ng/ml (pēc korekcijas atbilstīgi *parauga* īpatnējam svaram, ja *SG* > 1,018). Skat. tehnisko dokumentu par *GC/C/IRMS*.[[4]](#footnote-4)

d) Visu laboratoriju analītiskajām spējām ir jābūt tādām, lai noteiktu mazizmēra peptīdus, tostarp *GHS*, *GHRP*, gonadotropīna atbrīvotājfaktorus, *TB-500*, *AOD9604*, desmopresīnu utt. Tomēr pārbaudes iestādēm ir jāapzinās, ka šo vielu *pārbaude* varētu nebūt iekļauta laboratorijas kārtējās analītiskās pārbaudes izvēlnē, un tāpēc to analīze vajadzības gadījumā ir jāpieprasa, vai nu izmantojot *parauga* uzraudzības ķēdes veidlapu, vai tieši sazinoties ar laboratoriju, vai laboratorijai iepriekš vienojoties ar pārbaudes iestādi. Tomēr laboratorijas gonadotropīna atbrīvotājfaktoru analīzi veic, izmantojot apstiprināšanas procedūru, ko piemēro paaugstināta *LH* atradēm (skat. *TD CG/LH*[[5]](#footnote-5)).

e) Salbutamols un formoterols ir sliekšņa vielas, tāpēc to noteikšana un ziņošana par tiem ir aplūkota tehniskajā dokumentā par izšķiršanas robežām (*TD DL*).1 Ja šīs vielas ir noteiktas saistībā ar aizliegtu diurētisku līdzekli vai citu maskējošo līdzekli, par jebkuru to koncentrāciju ziņo kā par *nelabvēlīgu analīžu rezultātu*.

Ziņošana par salmeterolu un higenamīnu ir aprakstīta šā tehniskā dokumenta 4.0. sadaļā.

f) *GC/C/IRMS* analīzi veic pirms ziņošanas par *nelabvēlīgiem analīžu rezultātiem* *paraugos*, kuros formestāna daudzums ir diapazonā no 50 ng/ml līdz 150 ng/ml (pēc korekcijas atbilstīgi *parauga* īpatnējam svaram, ja *SG* > 1,018). Skat. tehnisko dokumentu par *GC/C/IRMS*.4

g) Katīns, efedrīns, metilefedrīns un pseidoefedrīns ir sliekšņa vielas, tāpēc to noteikšana un ziņošana par tām ir aplūkota tehniskajā dokumentā par izšķiršanas robežām (*TD DL*).1 Ja šīs vielas ir noteiktas saistībā ar aizliegtu diurētisku līdzekli vai citu maskējošo līdzekli, ir jāpiemēro ziņojamā robeža, kas noteikta stimulējošiem līdzekļiem, *t. i.*, 50 ng/ml; skat. šā tehniskā dokumenta 4.0. sadaļu.

h) Morfijs ir sliekšņa viela, tāpēc tā noteikšana un ziņošana par to ir aplūkota tehniskajā dokumentā par izšķiršanas robežām (*TD DL*).1

(i) 11-nor-Δ9-tetrahidrokanabinol-9-karbonskābe (*THC* karbonskābe) ir sliekšņa viela, tāpēc tās noteikšana un ziņošana par to ir aplūkota tehniskajā dokumentā par izšķiršanas robežām (*TD DL*).1

j) Lai noteiktu budesonīda ievadīšanu, *izmantojot* sistēmiskus veidus, laboratorijas veic mērķpārbaudes, lai noteiktu 6β-hidroksilētu *metabolītu.[[6]](#footnote-6)*

# 2.0. Noteikšanas robeža (*LOD*) sākotnējās pārbaudes procedūrai

## Metožu validācijas process, ko laboratorijas piemēro sākotnējās pārbaudes procedūrai, paredz *LOD* aprēķināšanu katrai vielai, kas nav sliekšņa viela, vai tās reprezentatīvajai vielai, mērķa *metabolītam(-iem)* vai *marķierim(-iem)*, izmantojot attiecīgo atsauces materiālu, ja tāds ir pieejams. *LOD* nav jānosaka visiem attiecīgās vielas, kas nav sliekšņa viela, iespējamajiem *metabolītiem*. Aprēķinātā *LOD* nedrīkst būt augstāka par 50 % no *MRPL*. Ja nav atbilstīga atsauces materiāla, ko izmantot konkrētai vielai, kas nav sliekšņa viela, vai tās raksturīgajam(-iem) *metabolītam(-iem)* vai *marķierim(-iem)*, pieņem, ka *LOD* būs līdzīga robežai, ko piemēro attiecīgajai tās pašas klases *aizliegtajai vielai*.

Ja vielas, kas nav sliekšņa vielas, nosaka, izmantojot hromatogrāfijas un masspektrometrijas metodes, *LOD* izsaka kā analizējamās vielas minimālo koncentrāciju, ko urīnā ir iespējams noteikt ar pieņemamu ticamību. *LOD* aprēķināšanai var izmantot signāla un trokšņa attiecību (*S/N*), ko var iegūt, salīdzinot signālus, kas izmērīti paraugos, kuros ir noteikta analizējamās vielas zema koncentrācija, ar signāliem, kas izmērīti tukšiem paraugiem. Parasti uzskata, ka *S/N* attiecība 3 ir pieņemama. Tomēr var piemērot arī citas plaši atzītas procedūras (*piemēram*, signāla atkārtojamības datus, ko izmanto, piemērojot *HRMS*).

**3.0. Apstiprināšanas procedūra**

Laboratorija dokumentē apstiprināšanas procedūras, ko piemēro vielām, kas nav sliekšņa vielas, lai ikvienu vielu, kas nav sliekšņa viela, vai tās reprezentatīvo vielu, mērķa *metabolītu(-us)* vai *marķieri(-us)* (kā noteikts tehniskajā dokumentā par minimālajiem kritērijiem analizējamo vielu identitātes hromatogrāfijas masspektrometrijas apstiprināšanai, *TD IDCR*[[7]](#footnote-7)) būtu iespējams identificēt *MRPL* vai zemākā līmenī.

**4.0. Ziņošana par vielām, kas nav sliekšņa vielas**

Par jebkuru apstiprinātu identificētas vielas, kas nav sliekšņa viela, koncentrāciju ziņo kā par *nelabvēlīgu analīžu rezultātu*, izņemot šādus gadījumus:

## par vielām, kas nav sliekšņa vielas, kuras atbilst vielu klasēm S6, S7, S8 un P1 un kuras ir aizliegtas tikai *sacensību laikā*, nav jāziņo, ja to līmenis ir zemāks par 50 % no *MRPL*;[[8]](#footnote-8)

* + - par glikokortikoīdiem (S9) nav jāziņo, ja *MRPL* ir zemāks par 30 ng/ml;
    - par salmeterolu un higenamīnu nav jāziņo, ja to līmenis ir zemāks par 10 ng/ml (*t. i.*, 50 % no *MRPL* attiecībā uz bēta-2-agonistiem);[[9]](#footnote-9)
    - par meldoniju nav jāziņo, ja tā līmenis ir zemāks par 100 ng/ml (*t. i.*, 50 % no *MRPL*);
    - par oktopamīnu nav jāziņo, ja *MRPL* ir zemāks par 1000 ng/ml.[[10]](#footnote-10)

1. *WADA* tehniskais dokuments *TD DL* “Decision Limits for the Confirmatory Quantification of Threshold Substances” [Izšķiršanas robežas apstiprinātā sliekšņa vielu daudzuma noteikšanai]. https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories [↑](#footnote-ref-1)
2. *WADA* tehniskais dokuments *TD GH* “Human Growth Hormone (hGH) Isoform Differential Immunoassays for *Doping Control* Analyses” [Cilvēka augšanas hormona (*hGH*) izoformu diferenciālie imūntesti *dopinga kontroles* analīzēm].

   https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories [↑](#footnote-ref-2)
3. *WADA* tehniskais dokuments *TD NA* “Harmonization of Analysis and Reporting of 19-norsteroids related to Nandrolone” [Ar nandrolonu saistītu 19-norsteroīdu analīzes un ziņošanas saskaņošana].

   https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories [↑](#footnote-ref-3)
4. *WADA* tehniskais dokuments *TD IRMS* “Detection of synthetic forms of Endogenous Anabolic Androgenic Steroids by GC/C/IRMS” [Endogēno anabolisko androgēno steroīdu sintētisko formu noteikšana, veicot *GC/C/IRMS* analīzi].

   https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories [↑](#footnote-ref-4)
5. *WADA* tehniskais dokuments *TD CG/LH* “Reporting and Management of Urinary Human Chorionic Gonadotrophin (hCG) and Luteinizing Hormone (LH) Findings in Male *Athletes*” [Ziņošana par cilvēku horionu gonadotropīna (*hCG*) un luteinizējošā hormona (*LH*) atradēm vīriešu dzimuma *sportistu* urīnā un to pārvaldība].

   https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories [↑](#footnote-ref-5)
6. X. Matabosch, O. J. Pozo, C. Pérez-Mña, M. Farré, J. Marcos, J. Segura, R. Ventura. Discrimination of prohibited oral use from authorized inhaled treatment of budesonide in sports. *Therapeutic Drug Monitoring* **35**(1):118–128, 2013. [↑](#footnote-ref-6)
7. *WADA* tehniskais dokuments *TD IDCR* “Minimum Criteria for Chromatographic-Mass Spectrometric Confirmation of the Identity of Analytes for Doping Control Purposes” [Minimālie kritēriji analizējamo vielu identitātes apstiprināšanai ar hromatogrāfijas masspektrometriju dopinga kontroles vajadzībām].

   https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories [↑](#footnote-ref-7)
8. Ziņojamās robežas, kas norādītas vielām, kas nav sliekšņa vielas un kas atbilst vielu klasēm S6, S7, S8 un P1, piemēro vai nu sākumsavienojumam, vai attiecīgajam *metabolītam*, ņemot vērā vielas metabolisma un ekskrēcijas veidu (ja vien tehniskajā dokumentā nav norādīts citādi). Minētās ziņojamās robežas nepiemēro dažādu molekulāro veidu kopējai koncentrācijai [*piemēram*, sākumsavienojumam un I fāzes *metabolītam(-iem)* vai citam(-iem) I fāzes *metabolītam(-iem)*]. Tomēr, ja izmantotajā metodē ir paredzēts noteikt konkrētas mērķa vielas (*piemēram*, glikuronīdus, sulfātus) II fāzes *metabolītus*, ziņojamo robežu piemēro brīvās un konjugētās vielas kopējam saturam (*t. i.*, sākumsavienojumam un tā II fāzes *metabolītiem*). To iegūst, vai nu atsevišķi nosakot molekulāros veidus (*piemēram*, veicot *LC-MS* analīzi), vai pēc II fāzes *metabolīta(-u)* (*piemēram*, lai veiktu *GC-MS* analīzi) hidrolīzes, un izsaka kā ekvivalentu sākumsavienojuma koncentrāciju. [↑](#footnote-ref-8)
9. Ziņojamās robežas, kas noteiktas salmeterolam un higenamīnam, piemēro, lai noteiktu tikai brīvo sākumsavienojumu. [↑](#footnote-ref-9)
10. Ziņojamo robežu, kas noteikta oktopamīnam, piemēro sākumsavienojuma un tā II fāzes sulfāta *metabolīta* kopējam daudzumam (ko izsaka kā ekvivalentu sākumsavienojuma koncentrāciju). [↑](#footnote-ref-10)