

Multi-class screening method for the analysis of doping agents in dried blood spot (DBS) samples

Rosa Ventura Alemany¹, Claudia Bressan¹, Sergi Coll Camenforte¹, Núria Monfort Mercader^{1,2}, Élide Alechaga Silva¹, Rosa Bergés Casas¹

¹Laboratorio Antidopaje de Catalunya. Hospital del Mar Research Institute. Barcelona. ²Departament de Ciències Experimentals i de la Salut. Universitat Pompeu Fabra.

doi: 10.18176/archmeddeporte.00156

Recibido: 20/04/2023

Aceptado: 30/01/2024

Summary

In the last years, the use of Dried Blood Spots (DBS) as alternative sampling technique is reaching an increasing interest in the antidoping field. The collection of DBS is performed from small volumes of capillary blood lied on adsorbent support (e.g. cellulose) and let to dry. Compared to the conventional urine or blood collection, this technique presents several advantages as the sampling is less invasive, rapid and does not required specialized personnel to be performed. It also facilitates transport and storage, reducing the costs. Conversely, the reduced sample volume available could represent a limitation and requires the use of highly sensitive instrumentation.

This work presents a multi-class screening method for 100 compounds belonging to different groups of the World Anti Doping Agency prohibited list, including anabolic agents, beta-2 agonists, hormone and metabolic modulators, and diuretics, among others. DBS samples for method development were obtained depositing 20 µL of venous blood and letting them to dry on cellulose cards. The whole DBS spot was then punched out and extracted with organic solvents prior to the analysis by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

The methodology was validated for qualitative purposes. Different parameters were evaluated. The vast majority of the compounds could be reliably detected at sub-ng/mL level. Satisfactory results were obtained in terms of recovery, precision and robustness. Also, matrix effects were negligible for most compounds, as expected considering the low volume of sample analyzed. As a final validation step, DBS samples collected after administration of boldenone, oxandrolone and tamoxifen to healthy volunteers were analyzed. The method showed good performance and robust results, making it fit-for- purpose for its application in sports drug testing.

Key words:

Doping. Dried blood spots.
DBS. Doping agents.

Método de detección multiclase para el análisis de agentes dopantes en gotas de sangre seca (DBS)

Resumen

En los últimos años, el uso de gotas de sangre seca (DBS) como técnica de muestreo alternativa está alcanzando un interés creciente en el campo antidopaje. La recogida de DBS se realiza a partir de pequeños volúmenes de sangre capilar que se colocan en un soporte adsorbente, normalmente de celulosa, y se dejan secar. Esta técnica presenta varias ventajas respecto a las matrices convencionales (orina, sangre) ya que el muestreo es menos invasivo, rápido y no requiere personal especializado. También facilita el transporte y almacenamiento, reduciendo los costes. Por el contrario, el reducido volumen de muestra disponible podría representar una limitación y requiere el uso de instrumentación altamente sensible.

En este trabajo, se presenta un método de detección multiclase para 100 compuestos de la lista prohibida de la Agencia Mundial Antidopaje, incluyendo agentes anabólicos, agonistas beta-2, hormonas y moduladores metabólicos, y diuréticos, entre otros. Las muestras de DBS para el desarrollo del método se obtuvieron depositando 20 µL de sangre venosa y dejándola secar sobre tarjetas de celulosa. Después se cortó toda la mancha y se extrajo con disolventes orgánicos y se analizó mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

La metodología fue validada con fines cualitativos. La gran mayoría de los compuestos se pudieron detectar de forma fiable a niveles inferiores al ng/ml. Se obtuvieron resultados satisfactorios en términos de recuperación, precisión y robustez. Además, el efecto matriz fue insignificante para la mayoría de compuestos, como se esperaba considerando el pequeño volumen de muestra analizada. Como paso final de validación, se analizaron muestras DBS obtenidas tras la administración de boldenona, oxandrolona y tamoxifeno a voluntarios sanos. El método mostró resultados sólidos, lo que lo hace adecuado para su aplicación en el control del dopaje en el deporte.

Palabras clave:

Dopaje. Gotas de sangre seca.
DBS. Agentes dopantes.

1^{er} Premio SEMED a la investigación 2023

Correspondencia: Rosa Ventura Alemany

E-mail: rventura@researchmar.net