

DEVANT LE TRIBUNAL ARBITRAL DU SPORT

Dans l'arbitrage entre)
)
FLOYD LANDIS)
)
)
CONTRE) **CAS 2007/A/1394**
)
)
UNITED STATES ANTI-DOPING AGENCY)
)
)
)
)

Déclaration de Cynthia MONGONGU

Je m'appelle Cynthia MONGONGU. Mon adresse est ALFD Département des analyses, 143 avenue Roger Salengro, 92290 Châtenay-Malabry, France. Je fais cette déclaration sur la base de mes connaissances personnelles.

Formation

J'ai obtenu un diplôme de maîtrise en chimie organique en 2002 et un master en analyses chimiques et biologiques en 2003 à l'université René Descartes Paris V.

Expérience en IRMS et emploi au LNDD

Durant mon année universitaire de master, de février à juillet 2003, j'ai effectué un stage de fin d'étude au sein du LNDD dans le département recherche et développement chimie en analyse isotopique (IRMS). L'objet de mon stage était de développer une méthode d'analyse de la DHEA par analyse isotopique afin de confirmer ou non une administration exogène de cette substance interdite. A partir septembre 2003, j'ai travaillé comme technicien analyste en IRMS et mon code opérateur est le numéro 49. Mes principales activités étaient l'analyse d'échantillons dans le cadre du contrôle antidopage et le développement analytique en IRMS. J'étais également chargée d'instrumentation et j'avais pour responsabilité la gestion et la maintenance des équipements de mesure du département.

J'ai été formée en IRMS par l'analyste en poste, et par les ingénieurs d'application du fabricant de l'instrument, GV instruments, lors de leurs venues sur site. J'ai participé au projet ISOSTER, projet européen pour valider une méthode de référence pour l'analyse de stéroïdes dans les urines bovines.

En janvier 2006, je devenais responsable du secteur analyses spécialisées, pilotais et supervisais l'activité du secteur. Fin janvier 2006, j'ai commencé à former Claire Frelat à l'analyse IRMS, y compris la préparation d'échantillon et la vérification des performances instrumentales en GC/MS et en IRMS. Je lui ai également montré comment identifier les pics en GC/MS et IRMS et comment procéder à l'intégration manuelle. Son habilitation à effectuer une analyse a été supervisée et validée par Dr Corinne Buisson. Par la suite, j'ai vérifié et validé plusieurs dossiers analytiques d'IRMS préparés par Claire Frelat et j'ai trouvé que toutes les analyses avaient été réalisées et documentées correctement.

Jusqu'à juillet 2006, j'avais été impliquée dans l'analyse IRMS d'environ 400 échantillons d'athlètes. Ces échantillons ont été analysés selon le même mode de préparation et d'analyse que l'échantillon 995474.

Méthode IRMS au LNDD

La méthode de confirmation des métabolites de la testostérone et précurseurs comprend trois parties.

Préparation de l'échantillon

La purification d'échantillon est composée de trois extractions successives qui permettent d'isoler sélectivement les stéroïdes d'intérêt. Entre la deuxième et la troisième extraction, on effectue une réaction chimique qui a pour but de rendre les stéroïdes plus volatiles afin de pouvoir les vaporiser pour la partie GC de l'analyse GC/C/IRMS. Cette réaction chimique s'appelle acétylation. Elle attache des groupements acétates aux molécules de stéroïdes. Chaque groupement acétate comprend deux atomes de carbone. La dernière extraction conduit à une séparation des molécules en trois fractions, F1, F2 et F3 selon qu'elles sont diols ou cétoniques. Les fractions contiennent donc un nombre de molécules stéroïdiennes très limité et de type similaire : la purification est donc sélective vis-à-vis des stéroïdes d'intérêt. A la fin de la purification, les échantillons sont mis en vials.

Identification des composés par GC/MS

L'analyse GC/MS s'effectue seulement après des étapes spécifiques qui consistent à vérifier et valider que l'instrument fonctionne correctement. Nous vérifions l'absence de fuite, nous calibrons la masse et nous injectons un standard contenant les molécules d'intérêt. L'analyse des échantillons permet l'identification des molécules et la vérification de la pureté des pics chromatographiques. A la fin de cette analyse GC/MS, les mêmes vials sont transférés sur l'instrument IRMS afin d'être analysés.

Analyse IRMS

L'analyse IRMS s'effectue seulement après des étapes spécifiques qui consistent à vérifier et valider que l'instrument fonctionne correctement. Nous effectuons une optimisation du signal (peak center), une vérification de la stabilité, nous injectons au minimum trois fois le Mix CalIRMS pour vérifier la précision de l'instrument et nous injectons le Mix Cal acétate pour vérifier la justesse. L'analyse permet de déterminer la mesure isotopique des molécules d'intérêt préalablement identifiées.

Standard interne 5alpha-AC

Le standard interne 5alpha-AC est ajouté à la fin de la préparation de l'échantillon. Il est utilisé comme repère de temps de rétention et il permet de déterminer les temps de rétention relatifs des composés d'intérêt. Le LNDD n'évalue pas la valeur delta du standard interne au sein de la procédure de contrôle de qualité du laboratoire.

Même colonne de chromatographie pour GC/MS et IRMS

Les colonnes chromatographiques utilisées sur les instruments GC/MS et IRMS sont exactement de même type (DB-17ms) (voir Ex. T084 page LNDD0664 et Ex. T112 page USADA0329).

En avril 2006, la société Quad Service a effectué une intervention qui consiste à vérifier que l'instrument répond aux spécifications de l'installation d'origine. La vérification du bon fonctionnement de l'instrument a alors été effectuée (voir Ex. T141). Au cours de cette vérification, une colonne de type HP5ms (Agilent part number : 19091s-433) apportée par l'ingénieur service-après-vente, Mr Le Petit, a été installée sur le GC/MS afin d'analyser des solutions tests. Mr Le Petit a entré le « model number » de la nouvelle colonne installée dans

le champ correspondant du logiciel et sauvegardé cette information dans le logiciel. Cette information resta alors en mémoire dans la station de travail.

A la fin de ce type d'intervention, la colonne DB-17ms, utilisée pour nos analyses de confirmation, est normalement réinstallée. Toutefois, en avril 2006, au lieu de réinstaller notre colonne DB-17ms usagée, nous avons décidé d'installer une nouvelle colonne DB-17ms. Nous nous assurons que la colonne utilisée est la bonne en vérifiant le nom de la colonne sur la boîte d'emballage et sur la plaque d'identité attachée à la colonne. Je suis certaine que la colonne installée en avril 2006 et utilisée pour l'analyse de l'échantillon 995474 était une colonne DB-17ms exigée par notre mode opératoire. Lorsque les paramètres d'analyse sont imprimés, elles informent du « model number » précédemment sauvegardé. Dans le cas présent, celui de la colonne DB-17ms utilisée n'a pas été sauvegardée dans la station de travail. Ceci explique l'apparition le « model number » Agilent 19091s-433 relatif à la colonne HP5ms dans la méthode imprimée lors de l'analyse de l'échantillon 995474. Ce détail qui nous a échappé n'a aucune influence sur l'opération de la méthode ou le résultat analytique.

Identification des pics en IRMS

Pour identifier les pics chromatographiques en IRMS, les profils chromatographiques obtenus en GC/MS sont comparés à ceux obtenus en IRMS (ordre d'élution et intensité relative des pics) et les temps de rétention et temps de rétention relatifs de chacun des composés d'intérêt sont comparés à ceux connus et obtenus pour le blanc urinaire. Le blanc urinaire pool 4 préparé et analysé en même temps que l'échantillon 995474 a été caractérisé avant d'être utilisé comme blanc urinaire pour nos analyses IRMS. J'ai analysé le blanc urinaire pool 4 en GC/MS après avoir injecté le Mix acétate pour caractériser et identifier les composés d'intérêt. Le Mix acétate contient les standards purs pour GC/MS des 6 analytes et permet donc la caractérisation des 6 composés. Ce même blanc urinaire a été injecté en IRMS afin de déterminer les valeurs deltas des 6 composés préalablement identifiés.

Au cours de la validation en 2005, j'ai analysé en GC/MS trois urines négatives avec le gradient GC/MS et le gradient IRMS. J'ai injecté deux fois chaque urine en GC/MS, une première injection a été effectuée avec le gradient de température utilisé en GC/MS et une deuxième injection a été effectuée avec le gradient de température utilisé en IRMS. J'ai ensuite comparé les profils chromatographiques et montré que l'ordre d'élution des composés

étaient les mêmes : les différences entre les deux programmes de température ne changent pas l'ordre d'élution. J'ai ensuite identifié toutes les molécules et comparé chaque spectre de masse obtenu avec le gradient GC/MS avec le spectre de masse correspondant obtenu avec le gradient IRMS, et ces spectres étaient suffisamment similaires pour garantir l'identification. Par exemple, pour le 5-alpha j'ai comparé le spectre de masse obtenu par GC/MS avec le gradient GC/MS avec le spectre de masse obtenu par GC/MS avec le gradient IRMS et ils étaient suffisamment similaires pour garantir l'identification. Par exemple, si le 5-alpha dans le chromatogramme obtenu avec le gradient GC/MS était le n ème pic à sortir et était de petite taille par rapport au pic précédent et au pic suivant, dans le chromatogramme obtenu avec le gradient IRMS le 5-alpha était aussi le n ème pic à sortir et était aussi de petite taille par rapport au pic précédent et au pic suivant. J'ai donc conclu qu'une comparaison des profils chromatographiques en GC/MS et IRMS permettait d'identifier les pics en IRMS. Ces programmes de température font partie de la méthode accréditée par le Cofrac et l'AMA. Ces mêmes programmes de température ont été utilisés pour toutes les analyses IRMS effectuées avant et depuis l'accréditation de 2006.

Puisque le 5-beta, le 5-alpha et le pdiol sont normalement présents dans les urines humaines, j'ai régulièrement vu ces pics dans le même ordre d'élution dans mes analyses en IRMS d'échantillons d'athlètes pendant les quatre dernières années.

Interprétation du TD2003IDCR-FR de l'AMA

Le document technique de l'AMA sur la séparation chromatographique TD2003IDCR-FR indique que le temps de rétention d'un composé ne doit pas différer de plus de 1% ou $\pm 0,2$ min (au plus petit des deux) de celui du même composé dans un échantillon de référence. Cette comparaison est effectuée sur des analyses effectuées sur un même instrument. Les temps de rétention et temps de rétention relatifs obtenus en GC/MS ne peuvent et ne doivent en aucun cas être comparés à ceux obtenus en IRMS compte tenu de la différence de l'appareillage. Un instrument IRMS, plus complexe qu'un GC/MS, comprend un four à combustion et des capillaires supplémentaires qui conduisent les analytes vers le détecteur de masse. Par ailleurs, le document technique TD2003IDCR-FR de l'AMA n'exige pas de comparer les temps de rétention entre GC/MS et IRMS. On ne peut que comparer des choses comparables.

Accréditation COFRAC et AMA

L'audit COFRAC de la section IRMS a eu lieu début février 2006 (voir Ex. T026 page LNDD0382 à 0431). L'auditeur technique COFRAC et AMA a audité le secteur IRMS durant toute une journée (voir Ex. T026 page LNDD0391, 0392 et 0396). J'étais présente lorsque l'auditeur a effectué une revue détaillée et soignée de nos procédures d'analyses IRMS ainsi que le rapport de validation IRMS. Il a observé Melle Frelat lors de la préparation d'un échantillon, l'identification des molécules par GC/MS, la vérification des performances instrumentales en IRMS et l'intégration manuelle en IRMS. Je me souviens qu'il a revu les instructions d'utilisation de l'instrument et le mode opératoire de vérification des données et intégration manuelle si nécessaire. Il a été satisfait des précautions analytiques prises par le laboratoire (voir Ex. T026 page LNDD0392 et 0397). L'auditeur a ajouté que le rapport de validation fourni pour la demande d'accréditation était très complet.

Respect du SIL

Pour l'analyse IRMS de l'échantillon 995474, j'ai eu connaissance d'une rature et elle était sans conséquence puisque qu'il n'y a pas de doute quant au numéro de l'échantillon (voir Ex. T024 page USADA0009). La série 178/07 contient 3 échantillons dont un seul est positif (voir page USADA0007). De plus, le responsable scientifique écrit la conclusion de l'analyse après avoir vérifié le dossier analytique IRMS de l'échantillon, lequel dossier renseigne sur le numéro d'échantillon qui a été analysé.

Lorsque j'ai effectué l'analyse de l'échantillon 995474 A, j'ai suivi les modes opératoires du laboratoire qui avaient été vérifiés et validés par l'auditeur COFRAC et AMA. En tant que responsable scientifique pour l'analyse du B, j'ai vérifié que l'analyste avait suivi les modes opératoires.

Enregistrement des données

Une intégration manuelle a pour but d'assurer que les résultats sont corrects, donc elle n'est pas enregistrée parce que ce n'est pas une modification des données brutes enregistrées au cours de l'analyse. Aucune donnée brute relative à l'injection des échantillons de Mr Landis n'a été effacée.

Durant l'analyse de l'échantillon 995474, aucune donnée utilisée pour l'établissement d'un Résultat anormal n'a été effacée ou écrasée.

Lors des analyses d'avril 2007 des 7 autres échantillons du Tour de France de Mr Landis, il y a eu des réinjections de contrôle de qualité instrumentale (MixCalIRMS et MixCal acétate) et certaines datas ont donc été écrasées. Ces réinjections ont été effectuées dans le but de remplacer des datas de charge d'insert ou des datas non exploitables (vial dans une position autre que la position correcte sur le passeur d'échantillon). En aucun cas, ces réinjections n'ont été effectuées parce que l'instrument n'était pas opérationnel. De plus, ces contrôles de qualité instrumentale autorisent le lancement de la séquence d'analyse des échantillons mais ne sont pas utilisés dans l'interprétation du résultat. Aucun data relatif à quelque injection que ce soit de quelque échantillon que ce soit de Mr Landis n'a été écrasé. Lorsqu'une deuxième injection d'échantillon a été effectuée, les deux datas ont été présentés dans le dossier analytique (voir analyse du 18 avril 2007 échantillon 993855 F3 Ex. T088 1^{ère} injection : fichier 1804855F3 page LNDD1110 et 1111, deuxième injection : fichier 1804855F3-2 page LNDD1085 et 1086).

Chaîne de possession du flacon 995474 A

J'ai été impliquée dans l'analyse de l'échantillon 995474 A en tant qu'analyste. Je me rappelle bien de la confirmation de l'échantillon A parce que j'étais d'astreinte le week end du 22-23 juillet 2006 et que c'est la seule confirmation IRMS que j'ai faite sur un échantillon du Tour de France. J'ai reçu un appel téléphonique très tôt le samedi matin me demandant de me rendre au laboratoire pour effectuer une analyse IRMS.

Ex. T144 page LNDD2014 est un plan du LNDD. Les deux rectangles à gauche représentent, respectivement, le premier étage et le rez-de-chaussée dans la zone contrôlée où les seules personnes autorisées à entrer sont les employés du LNDD et les visiteurs accompagnés par un employé du LNDD.

Ex. T144 page LNDD2015 est un tableau récapitulatif de la chaîne de possession du flacon A, qui comprend 15 étapes de 1A à 15A. L'endroit où a eu lieu chaque étape est indiqué sur le plan. Les 15 étapes sont toutes dans la zone contrôlée, ce qui signifie que le flacon A est demeuré à l'intérieur de la zone contrôlée depuis l'instant où il a été reçu au LNDD.

Sur le plan, 1A indique la salle où Rahali (code opérateur 21) a reçu l'échantillon 995474 (flacons A et B) le 20 juillet 2006 à 21 h 35 (voir Ex. T024 page USADA0024 et voir les documents annotés dans l'appendice).

Sur le plan, 2A indique le réfrigérateur CH.FR1 où Rahali (code opérateur 21) a stocké le flacon A le 20 juillet 2006 à 22 h 15 (voir Ex. T024 page USADA0006).

Sur le plan, 3A indique la salle où L Martin (code opérateur 44), après avoir déstocké le flacon A de la chambre froide CH.FR1 le 21 juillet 2006 à 7 h 25 (voir Ex. T103 page LNDD1590), a effectué la mise en tube pour le screening EPO (voir Ex. T103 page LNDD1590). La page LNDD1590 montre que L Martin a transféré le flacon à 9 h dans la salle 006. La page LNDD1590 concerne la série 178/07 qui comprend l'échantillon 995474 (voir Ex. T024 page USADA0006).

Sur le plan, 4A indique la salle où Garcia (code opérateur 19) avait le flacon A sous sa responsabilité le 21 juillet 2006 à 9 h 10 puisqu'elle a effectué la mise en tube pour les screenings autres que l'EPO (voir Ex T103 page LNDD1591).

Sur le plan, 5A indique la chambre froide CH.FR1 où Garcia (code opérateur 19) a stocké le flacon A le 21 juillet 2006 à 9 h 25 (voir Ex. T103 page LNDD1591).

Sur le plan, 6A indique la salle où Cerpolini (code opérateur 18) avait sous sa responsabilité le flacon A après l'avoir déstocké de la chambre froide CH.FR1 le 22 juillet 2006 à 9 h 05 (voir Ex. T024 page USADA0006). A 10 h 50 elle a effectué la mise en tube pour une confirmation T/E dans la salle 103 (voir Ex. T024 page USADA0200).

J'ai pris en charge le flacon A en salle 103. 7A sur le plan (salle 004) indique le lieu où j'ai effectué la mise en tube pour l'analyse en IRMS, le 22 juillet 2006 à 11h 20 (voir Ex. T024 page USADA0119). A la fin de la mise en tube, j'ai transféré le flacon A à Cerpolini en salle 103.

Sur le plan, 8A et 9A indiquent la chambre froide CH.FR1 où Cerpolini (code opérateur 18) a stocké le flacon A le 22 juillet 2006 à 12 h 45 (voir Ex. T024 page USADA0006).

Sur le plan, 10A indique la salle où Cariou (code opérateur 28), après avoir déstocké le flacon A de la chambre froide CH.FR1 le 23 juillet 2006 à 14 h 30 (voir Ex. T024 page USADA0006), a effectué la mise en tube pour une confirmation T/E à 15 h 00 (voir Ex. T024 page USADA0079).

Sur le plan, 11A indique la chambre froide CH.FR1 où Cariou (code opérateur 28) a stocké le flacon A le 23 juillet à 17 h (voir Ex. T024 page USADA0006):

Sur le plan, 12A et 13 A indiquent la chambre froide CH.FR3 où Cerpolini (code opérateur 18) a transféré le flacon A le 24 juillet à 8 h 20 après l'avoir déstocké de la chambre froide CH.FR1 (voir Ex. T024 page USADA0006).

Sur le plan, 14A et 15A indiquent le freezer CH.FR5 où Neveu (code opérateur V8) a transféré les flacons 995474 A et B le 28 juillet 2006 à 15 h 45, après les avoir déstockés du freezer CH.FR3 et les avoir accouplés (voir Ex. T024 page USADA0007, T103 pages LNDD1597 et 1595).

Le flacon A est donc resté dans la zone contrôlée pour la durée entière de son séjour au LNDD.

Confirmation IRMS de l'échantillon 995474 A

La préparation de cet échantillon et du blanc urinaire pool 4 a débuté le 22 juillet 2006 et s'est terminée le 23 juillet 2006. L'analyse GC/MS a été conduite puis les vials ont été transférés sur l'Isoprime 1 (IRMS). J'ai effectué les vérifications instrumentales usuelles. Tout d'abord, j'ai vérifié l'optimisation du signal (peak Center). Ensuite j'ai effectué des tests pour vérifier la stabilité du détecteur de masse. Après m'être assuré que l'instrument était stable, j'ai injecté le MixCalIRMS au moins trois fois successivement pour vérifier la précision. Avant d'injecter un échantillon j'ai vérifié la justesse de l'instrument en injectant le Mix Cal acétate qui contient des stéroïdes dont la valeur delta est connue. Tous ces contrôles répondaient aux spécifications établies au laboratoire, ce qui montrait et ce qui signifiait que l'instrument était opérationnel avant l'injection des échantillons. L'analyse de l'échantillon 995474 A et du blanc urinaire qui l'accompagnait a ensuite été effectuée. Les résultats obtenus pour les analyses de Mix Cal IRMS, Mix Cal acétate ont été saisis dans les cartes de contrôles et ont permis de vérifier que l'instrument était prêt. Les résultats obtenus pour le blanc urinaire ont été saisis dans les cartes de contrôle à la suite de l'analyse pour vérifier le bon déroulement de celle-ci. Pour cette confirmation tous les contrôles qualité ont été vérifiés et validés par Dr Buisson.

Avant de partir du laboratoire, j'ai sûrement vérifié le bon déroulement de la séquence et vu que le Mix Cal acétate de fin, qui est dans la séquence après les injections de blanc urinaire et d'échantillon d'athlète, n'était pas passé. Je suis sûre que je suis alors intervenue et j'ai lancé l'injection du Mix Cal acétate de fin. Je n'ai pas interrompu volontairement la séquence. De plus sur la base de mon expérience, une séquence peut s'arrêter seule, par exemple lorsque le numéro de position de vial correspond à une position vide. La deuxième injection du MixCal acétate s'effectue à partir du même vial que la première injection. Toutefois, pendant l'écriture de la séquence le logiciel incrémente automatiquement la position du vial de l'injection suivante, il est donc nécessaire de la corriger, et si cette correction est accidentellement omise, le numéro de position correspondra à une position vide et la séquence s'arrêtera. Une séquence peut également s'arrêter seule lorsqu'il manque du papier dans l'imprimante. A la fin de chaque injection, l'instrument imprime automatiquement la feuille de résultat d'intégration automatique. Lorsqu'il n'y plus de papier la séquence s'arrête

automatiquement. Mon opinion est que l'une ou l'autre de ces explications est probablement à l'origine du délai entre l'injection de l'échantillon et le Mix Cal acétate. Pendant ce délai il n'y a eu aucune injection d'échantillon ou de contrôle. Les résultats du Mix Cal acétate final montrent que pendant ce délai, l'instrument est resté stable.

Ex. T024 page USADA0185 à 0186 montre le résultat de l'analyse en IRMS. Ces deux pages annotées sont incluses à la fin de la présente déclaration. Les deux tableaux en bas de la première page montrent le résultat pour la fraction F3 (diols) qui contient le 5-alpha et le pdiol. Le deuxième tableau au bas de la deuxième page montre les valeurs isotopiques pour le blanc urinaire. Le dernier tableau en bas de la page montre les valeurs pour l'échantillon 995474 A.

J'ai identifié le 5-alpha et le pdiol de l'échantillon en comparant les profils chromatographiques obtenus en GC/MS et en IRMS, et en comparant les temps de rétention avec ceux des pics connus du blanc urinaire (voir page USADA0185). Pour le 5-alpha, le temps de rétention dans l'échantillon, 1337 secondes, est identique à celui du blanc urinaire. Il en est de même pour le pdiol, 1652 secondes dans l'échantillon comme dans le blanc urinaire (voir page USADA0185). Puisque les temps de rétention étaient identiques, je n'ai pas eu besoin de prendre en considération les temps de rétention relatifs.

J'ai ensuite vérifié l'intégration des pics et effectué lorsque cela était nécessaire une intégration manuelle selon le mode opératoire du laboratoire (voir Ex. T112 document M-DP-31). Selon ce mode opératoire, dans un premier temps, j'ai vérifié que le traitement automatique avait correctement repéré le bruit de fond. Si ce n'était pas le cas, j'ai repositionné correctement le bruit de fond (dans les zones sans pics chromatographiques). J'ai vérifié ensuite que chaque pic d'intérêt était correctement intégré en me basant sur le tracé 2/1 (qui correspond au signal carbone-13/carbone-12). Lorsque cela était nécessaire, j'ai repositionné le début et/ou la fin du pic et intégré correctement.

J'ai ensuite pris les valeurs delta mesurées par l'instrument et je les ai corrigés pour prendre en compte les acétates qui avaient été ajoutés. Le fichier Excel dans lequel je rentre les résultats contient la formule de correction. Ce fichier est protégé de sorte que l'analyste ne peut changer la formule. J'ai finalement calculé à l'aide de ce fichier Excel les 4 différences delta/delta, y compris en particulier :

$$5\text{-alpha delta} - \text{pdiol delta} = -27.72 - (-21.58) = -6.14$$

Le résultat apparaît sur la page USADA0186. L'incertitude sur la détermination du delta/delta étant de ± 0.8 unités delta (voir Ex. T026 page LNDD0452-0457), le fichier Excel a calculé $-6.14 \pm 0.8 =$ de -5.34 à -6.94 . Le critère de positivité de l'AMA étant que le delta/delta d'au moins un métabolite doit être supérieur à 3 (document technique AMATD2004EAAS-fr), j'ai conclu que l'analyse indique une origine exogène de la testostérone ou de l'un de ses précurseurs.

Confirmation IRMS de l'échantillon 995474 B

Mon rôle était de superviser l'analyse de contre-expertise, de vérifier et valider les résultats en tant que vérificateur scientifique. J'ai validé les différents contrôles qualité effectués par Claire Frelat : la stabilité, la précision et la justesse de l'instrument étaient corrects. Dans le dossier d'analyse remis par Claire Frelat, j'ai vérifié que l'identification des pics dans l'échantillon a été correctement effectuée. J'ai vérifié que les résultats obtenus pour le contrôle blanc urinaire étaient conformes à notre carte de contrôle (qui représente l'historique des valeurs isotopiques obtenues pour le blanc urinaire). Le résultat d'analyse établi par Claire Frelat était recevable.

Durant l'analyse de contre-expertise, je n'ai pas ouvert le flacon, je n'ai pas fait la mise en tube de l'échantillon, je n'ai pas effectué la préparation de l'échantillon, je n'ai pas préparé les instruments de mesure, je n'ai pas identifié les composés ni effectué la vérification des données IRMS et leur intégration manuelle si nécessaire.

Page data processing result correcte

En réponse à une question soulevée par Mr Landis, la raison pour laquelle la valeur delta du Mix Cal IRMS n'est pas la même sur la page Ex. T024 page USADA0155, « batch data processing results », et sur la page Ex. T024 page USADA0179, « data processing results », c'est que les données à la page 0155 sont obtenues par l'intégration automatique du logiciel avant toute correction, alors que les données aux pages 0179 ont été intégrées manuellement pendant ma vérification de l'intégration des pics.

Vérification de la linéarité de l'IRMS

Avant chaque utilisation de la machine, je vérifie sur la fiche de maintenance que la linéarité a été vérifiée dans les 30 derniers jours. C'était le cas pour les échantillons A et B du 995474.

Analyses d'avril 2007

Du 16 au 23 avril 2007 inclus, j'ai participé aux analyses des autres échantillons du Tour de France de Mr Landis, soit 8 jours consécutifs. Dr. Rodrigo Aguilera a apporté 3 échantillons urinaires qui ont été ajoutés à l'analyse de ceux de Mr Landis. Le premier jour, tous les échantillons ont été transférés dans de nouveaux flacons afin de les rendre anonymes. Melle Claire Frelat et moi-même avons analysé les échantillons en aveugle deux par deux tout au long de la semaine. Dr. Simon Davis, Mr Paul Scott et une interprète étaient présents pour Mr Landis.


Redépouillement des données électroniques

J'ai redépouillé les données électroniques de l'échantillon 995474 A selon les instructions de Dr. Francesco Botrè le 4 et le 5 mai 2007. Etaient également présents Dr. Simon Davis et son assistant, Dr Thomas Brenna et Janine Jumeau. J'ai redépouillé les données sur Isoprime 1 sous le logiciel OS2 et imprimé les résultats intégrés automatiquement, les résultats sans soustraction du bruit de fond et les résultats réintégrés manuellement. Les données électroniques ont ensuite été transférées sur Isoprime 2 équipé du software Masslynx. Après vérification de l'intégration des pics chromatographiques, nous avons imprimés les résultats obtenus avec ce logiciel. Tous les résultats obtenus ont conduit à la même conclusion, qui était que le 5-alpha - pdiol delta/delta montrait l'origine exogène du 5-alpha.

Correction de la transcription

- Tr 533:14-534:15, le mot anglais « rack » est incorrect. Le mot anglais correct est « bench ».
- Tr 536:18, le mot « he » doit être remplacé par « she ».
- Tr 600:17-603:10, les mots « added » (600:18), « placing it » (601:2) et « add » (601:6) ne sont pas corrects. Je n'ai pas ajouté de MixCal acétate, le vial était déjà sur l'instrument. J'ai simplement relancé la séquence pour qu'il soit injecté.
- Tr 661 :4-19, les mots « file » (661:4) et « document (661:6-8) sont incorrect. Il s'agit d'un flacon, en anglais « bottle ».

Je déclare, sous peine de parjure, d'après les lois en vigueur en France et dans l'Etat de New York, que ce qui précède est vrai et correct et que j'ai signé cette déclaration le 07 mars 2008 à Châtenay-Malabry.



Cynthia MONGONGU

APPENDICE

LNDD	ENREGISTREMENT	Codification : E-FCR-06
		Version : E
		Date : 24/11/05
		Page : 1/2
FICHE D'ANALYSE / RESULTATS GC/C/IRMS		

Echantillon : Instrument : GC/C/IRMS Isoprime 1
 Répertoire : CO et paraphe : 49 *[Signature]*
 Valeur isotopique du réactif de dérivation :

Fraction F1 (métabolites de la cortisone et du cortisol)

	Blanc urinaire		Echantillon	
	SI	11 Kétoétio	SI	11 Kétoétio
Nom du fichier	Data_010	Data_010	Data_011	Data_011
tr (s)	867	1474	867	1478
tr	-	1.700	-	1.705
Intensité (nA)	3.7	3.5	4.0	4.6
$\delta^{13}C$ ‰ mesurée	-30.80	-24.55	-31.64	-24.10
$\delta^{13}C$ ‰ corrigée	-	-21.56	-	-27.06

Fraction F2 (Kétas)

	Blanc urinaire			Echantillon		
	SI	Etio	Andro	SI	Etio	Andro
Nom du fichier	Data_012	Data_012	Data_012	Data_013	Data_013	Data_013
tr (s)	868	1232	1257	866	1230	1254
tr	-	1.419	1.448	-	1.420	1.448
Intensité (nA)	2.7	4.5	5.3	2.2	4.0	3.4
$\delta^{13}C$ ‰ mesurée	-29.94	-25.34	-24.98	-30.07	-26.43	-27.71
$\delta^{13}C$ ‰ corrigée	-	-22.43	-22.03	-	-23.63	-23.05

Fraction F3 (Diols)

	Blanc urinaire				measured delta value	corrected delta value
	SI	5 β Adiol	5 α Adiol	5 β PdIol		
Nom du fichier	Data_008	Data_008	Data_008	Data_008		
tr (s)	867	1305	1337 *	1652 **		
tr	-	1.506	1.541	1.904		
Intensité (nA)	6.2	7.1	2.3	3.6		
$\delta^{13}C$ ‰ mesurée	-30.66	-27.34	-28.40	-26.65		
$\delta^{13}C$ ‰ corrigée	-	-22.18	-23.22	-21.63		

BLANK URINE

	Echantillon				* 5-alpha RTs match	** pdiol RTs match
	SI	5 β Adiol	5 α Adiol	5 β PdIol		
Nom du fichier	Data_009	Data_009	Data_009	Data_009		
tr (s)	867	1305	1337 *	1652 **		
tr	-	1.504	1.542	1.905		
Intensité (nA)	6.8	5.5	2.6	3.3		
$\delta^{13}C$ ‰ mesurée	-30.05	-28.82	-32.12	-26.61		
$\delta^{13}C$ ‰ corrigée	-	-23.73	-27.72	-21.58		

SAMPLE

5-alpha delta - pdiol delta = -27.72 - (-21.58) = -6.14 on USADA0186 USADA 0185

176

LNDD	ENREGISTREMENT	Codification : E-FCR-06
		Version : E
		Date : 24/11/05
		Page : 2/2
FICHE D'ANALYSE / RESULTATS GC/C/IRMS		

	valeur de référence d'une population témoin		Echantillon dans les normes	
	$\delta^{13}\text{C}\%$ haute	$\delta^{13}\text{C}\%$ basse	oui	non
11 Kétoétio	-17.28	-26.27	X	
Etio	-19.56	-26.10	X	
Andro	-18.43	-23.02		X
5 β Adiol	-18.55	-26.97	X	
5 α Adiol	-18.59	-27.40		X
5 β Pdiol	-18.25	-25.55	X	

	Echantillon			
	Blu $\Delta\%$	$\Delta\% + 0,8\%$	$\Delta\%$	$\Delta\% - 0,8\%$
Etio - 11 Kétoétio	-0.37	-1.78	-2.58	-3.38
Andro - 11 Kétoétio	-0.48	-3.19	-3.99	-4.79
5 β Adiol - 5 β Pdiol	-0.55	-1.35	-2.15	-2.95
5 α Adiol - 5 β Pdiol	-1.59	-5.34	-6.14	-6.94

Seuil de positivité de l'AMA: $\delta^{13}\text{C}\%$ (métabolite) - $\delta^{13}\text{C}\%$ (composé endogène de référence) > 3‰

$\delta^{13}\text{C}$ du composé < -25‰

Variation maximale admissible liée à la méthode: +/- 0,8‰

Conclusion

L'analyse de l'échantillon par spectrométrie de masse de rapport isotopique (EC31) indique une origine exogène des métabolites de la testostérone, cohérente avec une prise de testostérone ou de l'un de ses précurseurs.

L'origine exogène des métabolites de la testostérone a été objectivée sur la base d'un appauvrissement isotopique de 3,99‰ et 6,14‰, respectivement pour les métabolites androstérone et 5 α androstane diol.

Partie à remplir par le responsable

Paraphe du responsable:
Observations:

CB

USADA 0186

Ecart(s) n° :

Cet enregistrement est à mettre dans le dossier de confirmation

175

IN THE COURT OF ARBITRATION FOR SPORT

In the arbitration between

FLOYD LANDIS

V.

UNITED STATES ANTI-DOPING AGENCY

)
)
)
)
)
)
)

CAS 2007/A/1394

WITNESS STATEMENT OF CYNTHIA MONGONGU

My name is Cynthia Mongongu. My address is AFLD Département des analyses, 143 avenue Roger Salengro, 92290 Châtenay-Malabry, France. I am making this statement based on my personal knowledge.

Education

I earned a master's degree in organic chemistry in 2002 and a master's degree in chemical and biological analyses in 2003 from Université René Descartes Paris V.

IRMS experience and employment at LNDD

During my master's program school year, from February to July 2003, I did an end-of-studies internship at LNDD in the Chemistry Research and Development Department in isotopic analysis (IRMS). The goal of my internship was to develop an isotope analysis method for DHEA in order to confirm or refute the exogenous administration of this prohibited substance. Starting in September 2003, I worked as an analyst technician in IRMS and my operator code is 49. My main activities were sample analysis in the context of doping control and IRMS analytical development. In addition, I was in charge of instrumentation and I was responsible for

the management and maintenance of measurement equipment for the department.

I was trained for IRMS by the analyst who already worked there, and by the application engineers of the instrument manufacturer, GV Instruments, during their site visits. I participated in the ISOSTER project, a European project to validate a reference method for steroid analysis in bovine urine.

In January 2006, I became the supervisor of the Specialized Analyses Section, and ran and oversaw the section's activities. At the end of January 2006, I began to train Claire Frelat in IRMS analysis, including sample preparation and GC/MS and IRMS instrument performance verification. I also showed her how to identify GC/MS and IRMS peaks and how to do manual integration. Her qualification to do analyses was supervised and approved by Dr. Corinne Buisson. Subsequently, I verified and approved several analytical files prepared by Claire Frelat and I found that all the analyses had been carried out and documented correctly.

Up to July 2006, I had been involved in the IRMS analysis of approximately 400 athletes' samples. These samples were analyzed using the same method of preparation and analysis as sample 995474.

IRMS Method at LNDD

The confirmation method for testosterone metabolites and precursors consists of three parts:

Sample preparation

Sample purification consists of three successive extractions which allow selective isolation of the steroids of interest. Between the second and the third extraction, a chemical reaction is carried out in order to make the steroids more volatile so that they can be vaporized for the GC part of the GC/C/IRMS analysis. This chemical reaction is called acetylation. It attaches acetate groups

to the steroid molecules. Each acetate group has two carbon atoms. The last extraction results in the separation of the compounds into three fractions, F1, F2 and F3 according to whether they are diols or ketones. Thus, the fractions obtained contain a very limited number of steroidal molecules of similar type: thus, the purification is selective for steroids of interest. When purification is complete, the samples are put in vials.

Compound identification by GC/MS

GC/MS analysis is done only after specific steps are taken to verify and confirm that the instrument is functioning properly. We verify the absence of leaks, we calibrate the mass spectrometer and we inject a standard containing the molecules of interest. The analysis of the samples allows the molecules to be identified and the purity of the chromatographic peaks to be verified. At the end of this GC/MS analysis, the same vials are transferred to the IRMS instrument to be analyzed.

IRMS analysis

IRMS analysis is done only after specific steps are taken to verify and confirm that the instrument is functioning properly. We carry out signal optimization (peak center), a verification of stability, we inject the Mix Cal IRMS at least three times to verify instrument precision and we inject the Mix Cal acetate to verify accuracy. The analysis allows us to determine the isotopic measurements of the molecules of interest previously identified.

5alpha-AC internal standard

The 5alpha-AC internal standard is added at the end of the sample preparation. It is used as a benchmark for retention time and it makes it possible to determine the relative retention times of

[Translation]

the compounds of interest. LNDD does not evaluate the delta value of the internal standard as part of the laboratory's quality control procedure.

Same chromatography column for GC/MS and IRMS

The chromatography columns used on the GC/MS and IRMS instruments are of exactly the same type (DB-17ms) (see Ex. T084, page LNDD0664 and Ex. T112, page USADA0329).

In April 2006, the company Quad Service made a service call to check that the instrument met the specifications of its original installation. At that time the instrument was checked to see that it functioned properly (See Ex. T141). During that inspection, an HP5ms column (Agilent part number: 19091s-433) brought by the after-sales service engineer, Mr. Le Petit, was installed on the GC/MS in order to analyze test solutions. Mr. Le Petit entered the "model number" of the newly installed column in the corresponding field in the software and saved the information in the software. This information then stayed in memory in the workstation.

At the end of this type of service call, the DB-17ms column, used for our confirmation analyses, is normally reinstalled. However, in April 2006, instead of reinstalling our used DB-17ms column, we decided to install a new DB-17ms column. We make sure that the column used is the right one by checking the name of the column on the box in which it is packed and on the identification tag attached to the column. I am certain that the column installed in April 2006 and used to analyze sample 995474 was a DB-17ms column as required by our operating procedure. When the analytical parameters are printed, they show the previously saved "model number". In this case, the model number of the DB-17ms column that was used was not saved in the workstation. This explains why the "model number" Agilent 19091s-433 corresponding to the

HP5ms column appears in the method printed during the analysis of sample 995474. This detail which we missed has no influence on operation of the method or the analytical result.

IRMS peak identification

To identify IRMS chromatographic peaks, the GC/MS chromatographic patterns are compared to those obtained by IRMS (elution order and relative peak intensity) and the retention times and relative retention times of each of the compounds of interest are compared to those known and obtained for the blank urine. The blank urine pool 4 prepared and analyzed contemporaneously with sample 995474 was characterized before being used as a blank urine for our IRMS analyses. I analyzed blank urine pool 4 by GC/MS after I injected the acetate mix to characterize and identify the compounds of interest. The mix acetate contains pure GC/MS standards of the 6 analytes, and thus it makes it possible to characterize the 6 compounds. The same blank urine was injected into the IRMS in order to determine the delta values of the 6 compounds previously identified.

During validation in 2005, I analyzed three negative urines by GC/MS using the GC/MS gradient and the IRMS gradient. I injected each urine twice on the GC/MS, a first time using the temperature gradient used for GC/MS and a second time using the temperature gradient for IRMS. I then compared the chromatographic profiles and showed that the elution order of the compounds was the same: the differences between the two temperature programs do not change the order of elution. Next, I identified all the compounds and compared each mass spectrum obtained using the GC/MS temperature program with the corresponding mass spectrum obtained using the IRMS gradient, and those spectra matched well enough to guarantee identification. For example, for 5-alpha, I compared the mass spectrum obtained by GC/MS using the GC/MS

