



**Deutsche
Sporthochschule Köln**
German Sport University Cologne

Institut für Biochemie
Institute of Biochemistry

Deutsche Sporthochschule Köln • 50927 Köln

Nationalen Anti-Doping Agentur Deutschland
z.H. Frau Regine Reiser
Ergebnismanagement | Ressort Recht
Heussallee 38
53113 Bonn

Prof. Dr. Wilhelm Schänzer
Institutsleiter
Head of Institute

Am Sportpark Müngersdorf 6
50933 Köln • Deutschland
Telefon +49(0)221 4982-4920
Telefax +49(0)221 49 73 236
schaenzer@biochem.dshs-koeln.de

Köln, den 9.Mai 2016

**Betr. Disziplinarverfahren NADA ./.. Benedikt Karus .
Stellungnahme zum Gutachten vom 21.04.2016 von Herrn Dr.
Kalbacher zu der Analyse durch die LSI Medicine Corporation, sowie
Herrn Schwenkes application note aus dem Jahr 2015**

Im Schiedsgerichtsverfahren NADA ./.. Benedikt Karus wird das Kölner Labor zu einigen Punkten aus dem Schreiben der Anwaltskanzlei Schmehl und der schriftlichen Stellungnahme von Dr. Kalbacher Stellung nehmen.

Ein immunologischer Nachweis, wie er in der SAR-PAGE Methode Anwendung findet, kann keinesfalls als indirekter Nachweis verstanden werden. Das EPO Molekül wird direkt mittels eines spezifischen anti-EPO Antikörpers nachgewiesen. Dies entspricht dem Standpunkt der WADA (siehe Punkt 5 unter www.wada-ama.org/en/questions-answers/blood-doping).

Entgegen dem Schreiben der Anwaltskanzlei Schmehl gibt es im Analysenbericht des japanischen Anti-Doping-Labors keinen Hinweis auf eine Verfälschungsmöglichkeit des SAR-PAGE Verfahrens durch eine Immunisierungstherapie. Für eine mögliche Veränderung des EPO-Moleküls durch eine Immunisierungstherapie gibt es derzeit keine Anhaltspunkte. Das japanische Anti-Doping Labor konnte lediglich zeigen, dass die verwendete MS-Methode kein Darbepoetin alpha in der A-Probe 142584 detektieren konnte.

In dem Gutachten von Dr. Kalbacher wird auf eine Application Note der Firma NHDyeagnostics Bezug genommen. Die dort beschriebene SAR-PAGE Methode soll laut Gutachten von Dr. Kalbacher eine Nachweisgrenze für Darbepoetin alpha von 2 pg/ml haben. Diese von Dr. Kalbacher erwähnte Nachweisgrenze wird an keiner Stelle der Application Note explizit erwähnt. Dr. Kalbacher kann sich bei seiner Angabe daher nur auf die Abbildung 1 auf Seite 3 beziehen. Hier ist eine Verdünnungsreihe für verschiedene EPO-Präparate, auch für Darbepoetin alpha, zu sehen. Diese Verdünnungsreihe wurde wie im Abbildungstext beschrieben mit

Standards (standard preparation) und nicht mit Darbepoetin gespickten Urin-Proben durchgeführt. Daher ist eine Ableitung der Nachweisgrenze aus dieser Abbildung nicht möglich.

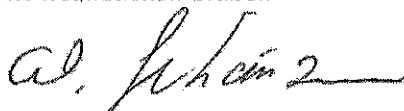
Ein möglicher Grund, dass in der MS-Analyse des japanischen Labors kein Darbepoetin alpha detektiert wurde, könnte in den unterschiedlichen Nachweisgrenzen der angewendeten Methoden (SAR-PAGE, Massenspektrometrie) liegen. Die beigefügte Publikation von Okano *et al.* beschreibt die für die Messung der Probe 142584 verwendete MS-Methode mit einer unteren Nachweisgrenze von 1,2 pg/ml. Im Analysenbericht selbst wird aber eine untere Nachweisgrenze von 1 pg/ml angegeben.

Das Kölner Labor hatte anhand der Daten der bisherigen Analysen eine densitometrische Abschätzung der Konzentration von Darbepoetin alpha in der Probe vorgenommen. Dabei enthielt die Probe ca. 0.5 pg/ml. Das wäre auch bei einer Nachweisgrenze der MS-Methode von 1 pg/ml unterhalb des Limits. Die in der Validierung des Kölner Labors festgelegte Nachweisgrenze für Darbepoetin alpha mittels SAR-PAGE beträgt 0.3 pg/ml.

In dem Analysenbericht (Certificate of Analysis) von Okano und Kageyama vom 23. März 2016 wird das Ergebnis mit folgender Bemerkung versehen: "Remark - The concentration of darbepoetin alfa might be typically below the lower-LOD of 1 pg/ml."

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Nachweisgrenze der im Kölner Labor verwendeten SAR-PAGE von 0.3 pg/ml unterhalb der Nachweisgrenze der MS-Methode liegt. Der fehlende Nachweis von Darbepoetin alpha mittels der MS-Methode ist aufgrund der schlechteren Nachweisgrenze kein Widerspruch zum positiven Befund mittels SAR-PAGE.

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. Wilhelm Schänzer