

Les défis du passeport biologique : du prélèvement à l'interprétation

Robinson N, Baume N

Résumé

L'Agence Mondiale Antidopage a officiellement lancé le passeport biologique en 2008. Le premier module validé pour lutter contre l'érythropoïétine (EPO) et la transfusion sanguine fut le module sanguin. Il a été très efficace pour attraper des athlètes dopés, et il a particulièrement réduit la prévalence du dopage sanguin. On ne sait pas si les athlètes ont arrêté le dopage ou se sont adaptés et prennent des micro doses d'EPO ou se transfusent de petits volumes de sang. Plus récemment, le module stéroïdien a été mis en place, mais jusqu'à présent, le nombre de cas de passeports urinaires atypiques a été très faible. L'une des raisons évoquées semble être le manque de standardisation des conditions pré-analytiques et analytiques. Ceci a pour effet d'accroître considérablement la variabilité intra-individuelle et diminuer significativement la sensibilité du modèle adaptatif. Des ressources doivent être investies pour améliorer le système actuel et empêcher ainsi les athlètes d'abuser de la testostérone et des composés apparentés.

Mots clé :

Passeport biologique, Harmonisation, Interprétation, Module sanguin, Module urinaire

Summary

In 2008, the World Anti-Doping Agency officially launched the biological passport. The first validated module to operate was the blood module to fight erythropoietin (EPO) and blood transfusion abuse. It has been quite efficient to catch some doped athletes, but above all, was very good in reducing the prevalence of doping. It is unclear if athletes stopped doping or have adapted and are taking micro doses of EPO or transfusing small blood volumes. More recently, the steroid module was released, but until now, the number of urine adverse passport cases is very low. The probable explanation is a lack of standardised pre-analytical and analytical conditions. As a side effect, the within subject variation increases significantly and the sensitivity of the adaptive model decreases a lot. Some resources should be invested to improve the current system and to prevent athletes from abusing of testosterone and related compounds.

Introduction

Depuis que les contrôles antidopage existent et quelle que soit l'origine des substances interdites, les laboratoires se sont focalisés essentiellement sur des méthodes de détection « directes » afin de mettre en évidence les composés eux-mêmes ou des produits de dégradation issus de leur biotransformation (métabolites) [1]. Pour cela, le monde scientifique s'appuie sur des méthodes de chimie analytique, de biochimie ou de biologie moléculaire qui permettent d'identifier formellement les substances interdites par l'Agence Mondiale Antidopage (AMA) dans un fluide biologique de l'athlète [2]. Afin d'augmenter la sensibilité de la lutte contre le dopage, notamment en lien avec les substances endogènes, les recherches menées ces quinze dernières années ont permis de développer des méthodes de détection « indirectes » qui apportent des indices de manipulation basés sur un suivi longitudinal de certains bio-marqueurs sensibles à la prise de produits dopants. En 2006, la notion de passeport biologique de l'athlète a été publiée [3] permettant une évaluation de données au cours du temps pour reconnaître des traits caractéristiques d'une pathologie ou de dopage grâce aux marqueurs biologiques. Le passeport biologique est constitué actuellement de deux modules que sont le module sanguin et urinaire (ou stéroïdien) [4]. Alors que le premier se focalise sur des marqueurs sanguins sensibles à la prise d'EPO recombinante ou à une transfusion (ex : réticulocytes, hémoglobine, ...), le second module s'intéresse au suivi de marqueurs quantifiés dans les urines et influencés par la prise de testostérone ou de ses précurseurs. Parmi les paramètres suivis, le rapport (T/E) des concentrations de la testostérone urinaire et de son épimère, l'épitéstostérone, est considéré comme un indicateur sensible à l'abus de stéroïdes anabolisants endogènes. On nomme « profil stéroïdien », la totalité des bio-marqueurs quantifiés dans l'urine [5].

Ces deux méthodes directe et indirecte ont leurs avantages et inconvénients en termes d'utilisation dans la lutte antidopage. L'approche du passeport biologique, ses contraintes et son application sont l'objet de cette revue.

L'utilisation du passeport biologique n'est possible que si les conditions pré-analytiques et analytiques sont standardisées et maîtrisées. Pour cela, il est nécessaire de réduire significativement les variabilités biologiques et analytiques pour faciliter l'interprétation du passeport par les experts et maintenir un niveau de sensibilité et de spécificité suffisants. Ainsi, des règles rigoureuses doivent être suivies afin de limiter les variabilités dues notamment aux conditions de prélèvement, de transport, de stockage et d'analyses. Actuellement, les organisations responsables des prélèvements suivent les instructions indiquées dans le document intitulé « Standard international pour les contrôles et les enquêtes (SICE) » qui fixe un cadre [6], mais n'exige pas que les prélèvements soient effectués par des organisations et des sociétés accréditées selon les normes ISO (Organisation internationale de normalisation). Il en résulte que les procédures de prélèvements ne sont pas uniformisées et la documentation liée aux échantillons antidopage est parfois lacunaire. D'autre part, la majorité de ces organisations, ne subissent pas de visite de surveillance et n'ont pas à proprement parler mis en place un système d'audit interne pour assurer le degré de maîtrise de leurs opérations. Dans certains cas, le manque de rigueur peut entraîner des problèmes importants pour le laboratoire ou l'autorité de contrôle et conduire à l'invalidation éventuelle d'échantillons importants dans le passeport biologique (Tableau 1).

Pré-analytique

Aujourd'hui, la plupart des organisations antidopage utilisent des formulaires de contrôle du dopage pour documenter les prélèvements sanguins et urinaires. Ces formulaires, en papier carbone, semblent dater d'une autre époque mais restent encore d'actualité, car ils peuvent être utilisés dans toutes les régions du monde et sont financièrement accessibles. Ils sont différents pour la plupart des agences nationales, des fédérations nationales/internationales et des sociétés de contrôle. Les informations recueillies ne sont pas uniformes ; les ques-

	Sang	Urine
Conditions pré-analytiques		
Standardisation du matériel de prélèvement	Oui	Oui
Standardisation de la procédure de récolte d'échantillons	Oui	Oui
Standardisation de la procédure de transport des échantillons au laboratoire	Oui	Non
Standardisation de la procédure de préparation / extraction d'échantillons	Oui	Non
Conditions analytiques		
Participation à des contrôles de qualité internes avec du matériel certifié	Oui	Non
Participation à des contrôles de qualité internes identiques pour tous les labs	En cours	Non
Participation et évaluation de contrôles de qualité externes par un organisme accrédité	Oui	Non
Standardisation de la procédure d'analyse des échantillons	Oui	Non
Standardisation de la procédure de confirmation des échantillons	Oui	Non
Rendu des résultats		
Standardisation de la procédure de rendu des résultats	Oui	Non
Standardisation de la documentation associée à l'analyse d'un échantillon	En cours	Non

Tableau 1 : Situation en 2016 de l'harmonisation des conditions pré-analytiques et analytiques des analyses sanguines et urinaires nécessaires à l'application du passeport biologique.

tions posées ne sont pas nécessairement dans la langue de l'athlète testé et peuvent entraîner des erreurs importantes. Plusieurs copies sont générées, une pour l'athlète, une pour l'autorité de contrôle et la dernière pour le laboratoire, assurant l'anonymat du processus analytique. Il est possible que l'écriture sur la dernière copie soit illisible car le contrôleur n'a pas appuyé suffisamment sur le document original. Au moment du rendu des résultats d'analyses, le laboratoire peut alors introduire des informations erronées dans la base de données ADAMS (Système d'administration et de gestion antidopage) de l'AMA.

Sang

Les conditions pré-analytiques pour la récolte, le transport des échantillons sanguins ont été étudiés à maintes reprises (*Tableau 1*). Il a été nécessaire de faire la balance entre les conditions optimales et la réalité du terrain. Par exemple, les prélèvements de sang sont réalisés sur des athlètes après une période de repos de 10 minutes en position assise. En milieu hospitalier, les prélèvements sont généralement effectués sur des patients couchés afin d'éviter un éventuel malaise vagal. Sur les lieux de compétitions, les camps d'entraînement ou les stades, il n'est pas toujours facile de trouver un lit et pour cette raison, la position assise a été choisie de préférence à la position couchée lors des prélèvements antidopage [7].

Actuellement les prélèvements de sang ont lieu uniquement après un minimum de deux heures de repos après effort. Cette condition est particulièrement contraignante pour les sports pratiqués en soirée comme un match de football par exemple. En effet, toute une logistique est mise en place pour ramener les athlètes rapidement à leurs hôtels ; par conséquent les deux heures d'attente peuvent retarder toute une équipe. Des recherches sont nécessaires afin de réduire cette période de repos de deux heures [8]. Une approche intéressante et prometteuse est la mesure du volume plasmatique permettant ainsi d'évaluer précisément la balance entre la quantité de liquide perdue ou ingérée pendant et après l'effort [9].

De nombreuses publications indiquent que le meilleur moyen pour maintenir l'intégrité du matériel biologique contenu dans les tubes de sang est de transporter les échantillons rapidement et de maintenir les échantillons dans un environnement réfrigéré [10–12]. Des discussions ont eu lieu pour déterminer si les échantillons sanguin pouvaient être analysés 36, 48 heures ou même plus après la récolte. Les conditions de température pour le transport ont également été sujettes à controverse. Fallait-il fixer des seuils de 2 à 8 °C, de 2 à 12 °C ou simplement indiquer : « échantillon transporté à température réfrigérée ». Finalement, après analyse de nombreuses publications et vérification avec des échantillons antidopage, une solution a été proposée, le BSS (Blood Stability Score) [13]. Il s'agit d'un score qui tient compte du temps et de la température. Si un échantillon est transporté à température ambiante, alors le temps de transport doit être très court. En revanche, si la température est basse (mais > 0 °C), alors le temps de transport peut être prolongé. Cette approche à l'avantage de ne pas invalider inutilement des échantillons si les limites de température ou de temps de transport ne respectent pas strictement les limites fixées actuellement dans les documents techniques.

Urine

Contrairement au sang, les prélèvements d'urine peuvent prendre beaucoup de temps. Les athlètes testés après effort peuvent être déshydratés ; la prise de liquide pour faciliter la récolte d'urine peut entraîner une dilution des échantillons. Si la gravité spécifique de l'urine est inférieure à 1.005, alors l'athlète doit fournir un échantillon supplémentaire.

Selon les textes de l'AMA, les athlètes doivent fournir 90 mL d'urine au minimum lors d'un test antidopage. Ce volume peut être difficile à récolter et il arrive que l'athlète fournisse le volume demandé en une, deux ou trois étapes. Il est très important que toutes les fractions récoltées soient mélangées et réparties dans le flacon A et le flacon B. Très souvent, les fractions ne sont pas bien homogénéisées rendant les flacons A et B du même prélèvement différents. Le laboratoire devrait reporter une non conformité à l'autorité de contrôle, mais cette information n'est pas toujours transmise.

Le transport des échantillons urinaires devrait être réalisé dès que possible. Sur une période de deux mois, le temps mis pour la livraison des échantillons dans un laboratoire antidopage peut varier entre un et vingt jours. Inévitablement, les transports de longue durée ont eu un impact négatif sur la qualité des échantillons avec notamment une croissance bactérienne importante, une augmentation du pH et une élévation des nitrites. Les bactéries se développent volontiers dans les urines et métabolisent certains composés pouvant modifier le profil stéroïdien. Un profil pourrait devenir suspect alors que la cause n'est pas due au dopage, mais à une contamination bactérienne [14].

Il existe des études qui démontrent que les échantillons urinaires peuvent être stabilisés par l'ajout de bactériostatique [15]. Cependant, les substances utilisées ont un impact sur certaines variables telles que la gravité spécifique, le pH... Une autre stratégie suggérée est la congélation ou la réfrigération des urines immédiatement après la récolte afin de stopper une quelconque dégradation. Cette option fonctionne relativement bien sauf que les coûts de transports augmentent considérablement. Pour empêcher le rendu de résultats non conformes à cause de la présence de bactéries, des marqueurs de la contamination bactérienne ont été identifiés afin d'établir des critères de validité des échantillons [16]. D'autres critères d'acceptabilité des échantillons urinaires peuvent être proposés afin d'augmenter la fiabilité des résultats de profils stéroïdiens (*Tableau 2*). Ces critères ne sont actuellement pas validés par l'AMA.

Processus analytique

Sang

La mise en place du passeport sanguin était relativement aisée car peu de laboratoire antidopage étaient en possession d'analyseurs hématologiques. Par conséquent, la formation, le choix des appareils, les procédures d'analyse, les contrôles de qualité ont été essentiellement coordonnés par l'AMA avec le soutien d'un nombre limité de directeurs de laboratoire ayant l'expertise dans le domaine.

Actuellement, tous les laboratoires utilisent le même type d'appareil, suivent la même procédure pré-analytique et analytique, participent au même programme de contrôle de qualité externe et pour certains, utilisent les mêmes de contrôles

	Les analyses urinaires peuvent être réalisées	
	Non	Oui
Documentation lacunaire/incorrecte		X ¹
Flacon urinaire fendu/brisé	X	
Volume insuffisant		X ²
Température incorrecte lors du transport	X	
Durée du transport trop longue	X	
Différence de couleur ou de turbidité entre les échantillons A et B	X	
Présence de colonies élevées de bactéries/chlamydiae/ Mycoplasmes/levures	X ³	
pH élevé	X ³	
Concentration de nitrites élevée	X ³	
Gravité spécifique faible		X ⁴

¹ Si la documentation est lacunaire, l'autorité de contrôle antidopage doit fournir les informations nécessaires au laboratoire pour réaliser les analyses et introduire les données dans ADAMS.

² Si le volume urinaire est insuffisant, l'autorité de contrôle antidopage décide quelles analyses doivent être effectuées.

³ Le laboratoire antidopage doit avertir l'autorité de contrôle des éventuels risques liés à l'analyse d'échantillons urinaires contaminés. Si les analyses sont effectuées, alors les résultats d'analyse doivent clairement indiquer une faible fiabilité des données.

⁴ Les techniques analytiques ont énormément progressé ces dernières années. Peu d'analyses sont affectées par une faible gravité spécifique. Si les résultats sont proches de la limite de quantification, alors le laboratoire a le devoir de le signaler au client.

Tableau 2: Proposition de critères d'acceptabilité techniques des échantillons antidopage au moment de la réception au laboratoire.

de qualité interne avec une évaluation en temps réel de la précision et du biais intra et inter instrumental. Le souci majeur d'une telle harmonisation est le renouvellement des appareils hématologiques lorsqu'un laboratoire doit changer son instrument et que le fournisseur ne peut plus vendre la technologie utilisée par l'ensemble des autres laboratoires.

Urine

Contrairement aux analyses sanguines, tous les laboratoires accrédités réalisent des analyses urinaires et mesurent depuis de nombreuses années les stéroïdes endogènes. En revanche, les méthodes de préparations des échantillons urinaires, d'analyses et d'interprétation des résultats ne sont pas nécessairement comparables entre les laboratoires ce qui a pour conséquence d'accroître significativement la variabilité analytique. Ceci a peu d'incidence pour une organisation antidopage qui envoie tous ces échantillons dans un seul laboratoire ; en revanche, si l'organisation fait appel à l'ensemble du réseau de laboratoires accrédités par l'AMA, la variabilité analytique sera plus importante.

Aujourd'hui, l'AMA cherche par tous les moyens de réduire ces différences, mais la tâche est ardue et a un coût financier très important. Une des solutions serait de revoir le système actuel et de favoriser une approche telle que celle mise en place pour les analyses sanguines et d'harmoniser les processus tout en permettant le développement de nouvelles technologies.

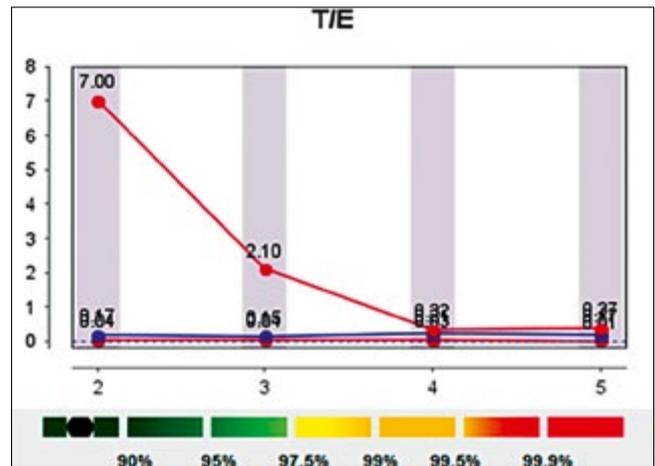
Interprétation et conclusions

Le passeport sanguin est accepté par la communauté scientifique et par les juristes. L'AMA dans son rapport annuel d'activité en 2015 annonce fièrement que plus de 90 athlètes ont été sanctionnés depuis 2009. En ce qui concerne le passeport stéroïdien, le succès est mitigé pour de multiples raisons. Il y a des problèmes pré-analytiques et analytiques et surtout de nombreux facteurs confondants existants tel que l'alcool, certains antifongiques (exemple : Ketoconazol) ou encore les hormones gonadotropes qui complexifient l'analyse des profils urinaires [17] (Figure 1).

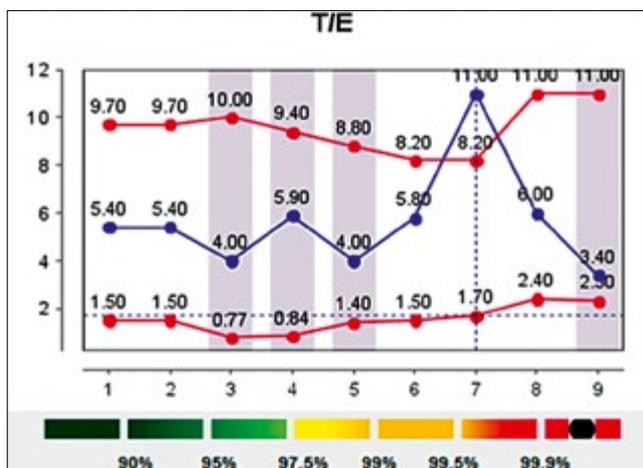
Lorsqu'une organisation antidopage décide d'utiliser le passeport sanguin, il est relativement facile d'identifier les athlètes qui se dopent soit à l'EPO ou à la transfusion sanguine. La pression mise sur les athlètes a pour conséquence directe de réduire la prévalence du dopage. De nos jours, les tests sanguins réguliers font partie de l'arsenal de dissuasion que les organisations antidopage ont à disposition. Alors que certaines fédérations internationales ont presque dix ans d'expérience du passeport, identifier et sanctionner un athlète dopé faisant partie de ces fédérations est de plus en plus difficile. En effet, le mode de dopage est devenu très sophistiqué (micro-doses) et n'entraîne pas nécessairement des variations importantes des marqueurs tels que la concentration d'hémoglobine ou le pourcentage de réticulocytes. Reste à savoir si ce dopage quasi homéopathique est efficace ; en revanche les différences de performances entre les athlètes dopés et les athlètes propres s'amoinrent significativement.

A l'heure actuelle, chaque nouveau test mis dans ADAMS est intégré dans le passeport de l'athlète. Un modèle adaptatif évalue objectivement les données et émet une alerte lorsque des valeurs ne sont pas dans les limites individuelles

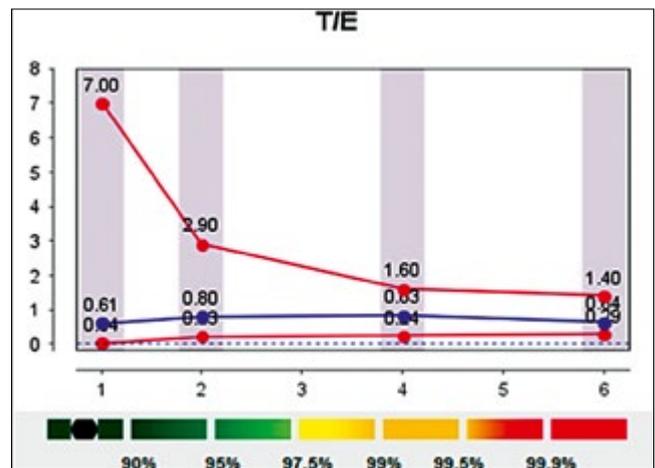
Figure 1 : Présentation de trois profils T/E (passeport stéroïdiens) provenant de trois athlètes différents testés à plusieurs reprises (entre cinq et neuf fois). Les lignes verticales grisées indiquent que les échantillons urinaires ont été prélevés après une compétition ; les autres échantillons ont été prélevés hors compétitions. **A)** Passeport normal avec un rapport T/E faible. Ce rapport est faible à cause d'une délétion génétique liée au métabolisme de la testostérone [20]. **B)** Passeport normal avec un rapport T/E élevé (échantillon No 7) suite à la prise d'alcool (facteur confondant) [17]. Ce résultat d'analyse doit être invalidé. **C)** Passeport normal avec un rapport T/E proche de 1 ; deux tests (3 et 5) ont été invalidés pour cause de contamination bactérienne [16].



A



B



C

de l'athlète. A ce moment, le profil est envoyé à un panel d'experts pour une évaluation qualitative des données. Ce panel doit notamment exclure toutes pathologies, déviations pré-analytiques et analytiques [18]. L'athlète a ensuite la possibilité de donner des explications sur l'origine des données anormales et si les explications ne sont pas convaincantes, alors la fédération pourra ouvrir une procédure antidopage à l'encontre de l'athlète.

En conclusion, le passeport de l'athlète est un outil à grande valeur ajoutée pour lutter contre le dopage car il permet de sanctionner des athlètes, de faire de la prévention et de réaliser des études de prévalence [19]. Ces dernières permettent de mieux déterminer quels sont les sports à risque, les régions du monde qui nécessitent plus de moyens pour la lutte antidopage et aussi de quantifier si des programmes de prévention sont efficaces ou non. Le passeport actuel est encore à l'état embryonnaire et les nouvelles technologies associées au traitement individuel de données provenant de nouvelles approches de type protéomique, métabolomique, stéroïdomique et transcriptomiques vont très vraisemblablement révolutionner la lutte antidopage dans les prochaines années.

Implications pratiques

- Une standardisation des procédures et des documents de collecte d'échantillons antidopage est nécessaire pour augmenter la robustesse du système de la lutte contre le dopage.
- Le module sanguin du passeport biologique de l'athlète a fait ses preuves quant à la détection et à la dissuasion des conduites dopantes avec l'EPO et la transfusion.
- Le module urinaire ou stéroïdien du passeport biologique souffre d'un manque d'harmonisation sur le plan analytique ainsi que de l'existence d'agents confondants qui rendent l'interprétation des profils plus complexe.
- Le passeport biologique est amené à évoluer en incluant d'autres bio-marqueurs sensibles à l'abus de substances interdites par l'AMA. →

Contact auteur

Dr. Norbert Baume
Laboratoire suisse d'analyse du dopage
Centre universitaire romand de
médecine légale, Lausanne-Genève
(CURML)
Centre Hospitalier Universitaire
Vaudois (CHUV) et Université de
Lausanne (UNIL)
Chemin des Croisettes 22
1066 Epalinges
Suisse
norbert.baume@chuv.ch
Téléphone : +41 (0)21 314 73 30
Fax : +41 (0)21 314 70 95



Références

1. Thevis M, Kuuranne T, Walpurgis K, Geyer H, Schanzer W. Annual banned-substance review: analytical approaches in human sports drug testing. *Drug Test Anal.* 2016;8(1):7-29.
2. World Anti-Doping Agency. The World Anti-Doping Code, the 2016 Prohibited List, International Standard 2015 [cited 12.09.2016 Web Page]. Available from: <https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/wada-2016-prohibited-list-fr.pdf>.
3. Sottas PE, Robinson N, Saugy M. The athlete's biological passport and indirect markers of blood doping. *Handbook of Experimental Pharmacology.* 2010;(195):305-26. doi(195):305-26.
4. Vernec AR. The Athlete Biological Passport: an integral element of innovative strategies in antidoping. *Br J Sports Med.* 2014;48(10):817-9.
5. Sottas PE, Baume N, Saudan C, Schweizer C, Kamber M, Saugy M. Bayesian detection of abnormal values in longitudinal biomarkers with an application to T/E ratio. *Biostatistics (Oxford, England).* 2007;8(2):285-96.
6. World Anti-Doping Agency. The World Anti-Doping Code: International Standard for Testing and Investigations (ISTI) 2014 [cited 12.09.2016 Web Page]. Available from: <https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/WADA-2015-ISTI-Final-FR.pdf>.
7. Ahlgrim C, Pottgiesser T, Robinson N, Sottas PE, Ruecker G, Schumacher YO. Are 10 min of seating enough to guarantee stable haemoglobin and haematocrit readings for the athlete's biological passport? *Int J Lab Hematol.* 2010;32(5):506-11.
8. Schumacher YO, Wenning M, Robinson N, Sottas PE, Ruecker G, Pottgiesser T. Diurnal and exercise-related variability of haemoglobin and reticulocytes in athletes. *Int J Sports Med.* 2010;31(4):225-30.
9. Garvican-Lewis LA, Schumacher YO, Clark SA, Christian R, Menappa P, Plowman J, et al. Stage racing at altitude induces hemodilution despite an increase in hemoglobin mass. *J Appl Physiol (1985).* 2014;117(5):463-72.
10. Ashenden M, Clarke A, Sharpe K, d'Onofrio G, Plowman J, Gore CJ. Stability of athlete passport parameters during extended storage. *Int J Lab Hematol.* 2013;35(2):183-92.
11. Ashenden M, Sharpe K, Plowman J, Allbon G, Lobigs L, Baron A, et al. Stability of athlete blood passport parameters during air freight. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(5):505-13.
12. Robinson N, Giraud S, Schumacher YO, Saugy M. Influence of transport and time on blood variables commonly measured for the athlete biological passport. *Drug Test Anal.* 2016;8(2):199-207.
13. Robinson N, Kirchbichler A, Banuls O, Mader M, Aikin R, Sottas PE, et al. Validation of a Blood Stability Score as an easy-to-use blood sample quality index. *Int J Lab Hematol.* 2016.
14. Robinson N, Sottas PE, Saugy M. Fluorescence flow cytometer to determine urine particle reference intervals in doping control samples. *Forensic Sci Int.* 2011;213(1-3):95-100.
15. Tsiyou M, Giannadaki E, Hooghe F, Roels K, Gansbeke WV, Garriba F, et al. Doping control container for urine stabilization: a pilot study. *Drug Test Anal.* 2016.
16. Mazzarino M, Abate MG, Alocci R, Rossi F, Stinchelli R, Molaioni F, et al. Urine stability and steroid profile: towards a screening index of urine sample degradation for anti-doping purpose. *Analytica Chimica Acta.* 2011;683(2):221-6.
17. Kuuranne T, Saugy M, Baume N. Confounding factors and genetic polymorphism in the evaluation of individual steroid profiling. *Br J Sports Med.* 2014;48(10):848-55.
18. Schumacher YO, d'Onofrio G. Scientific expertise and the Athlete Biological Passport: 3 years of experience. *Clin Chem.* 2012;58(6):979-85.
19. Sottas PE, Robinson N, Fischetto G, Dolle G, Alonso JM, Saugy M. Prevalence of blood doping in samples collected from elite track and field athletes. *Clin Chem.* 2011;57(5):762-9.
20. Schulze JJ, Lorentzon M, Ohlsson C, Lundmark J, Roh HK, Rane A, et al. Genetic aspects of epitestosterone formation and androgen disposition: influence of polymorphisms in CYP17 and UGT2B enzymes. *Pharmacogenetics and genomics.* 2008;18(6):477-85.