


5-Fluorouracil (My5-FU™) Assay

Kundendienst:

Telefon: +1 (610) 419-6731

Fax: +1 (484) 547-0590

E-mail: Techsupport@saladax.com

MyCareTests.com

Legende der verwendeten Symbole

IVD	Medizinprodukt zur <i>in-vitro</i> -Diagnostik		Gebrauchsanweisung beachten
REF	Katalognummer		Verwendbar bis
LOT	Chargennummer		Temperaturgrenzen
	Hersteller	 (N) x	Reagenzien (R1 und R2) vor Gebrauch N Mal vorsichtig umdrehen
R1	Reagenz 1	R2	Reagenz 2
CH REP	Bevollmächtigter Vertreter in der Schweiz		
EC REP	Autorisierte EU-Vertretung		


 Saladax Biomedical, Inc.
 116 Research Drive
 Bethlehem, PA 18015
 USA

 EMERGO EUROPE
 Westervoortsedijk 60,
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands

 Casus Switzerland GmbH
 Hinterbergstrasse 49
 6312 Steinhausen
 Switzerland

Verwendungszweck

Der Saladax 5-Fluorouracil (My5-FU)-Assay ist ein *In-vitro*-Diagnosesystem, das zur quantitativen Bestimmung von 5-FU in Humanplasma vorgesehen ist, wobei automatisierte klinische Analysegeräte verwendet werden, um die Anwendung einer 5-FU-Therapie zu unterstützen.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

5-FU (u. a. Adrucil) ist ein Chemotherapeutikum, das zur Behandlung verschiedener solider Karzinome eingesetzt wird, insbesondere bei Kolorektal-, Magen-, Brust-, Pankreaskrebs und Patienten mit Kopf-/Hals-Tumoren.¹⁻² Seit der Entwicklung im Jahr 1957 ist es der Grundpfeiler der Behandlung von kolorektalen Karzinomen.³ Die Stoffwechselwege von 5-FU wurden umfassend untersucht, und mehrere Studien haben eine hohe inter-individuelle Variabilität des 5-FU-Metabolismus gezeigt. Die Blutkonzentrationen von 5-FU können um über das Zehnfache variieren, selbst wenn die gleiche Dosis nach Körperoberfläche (KOF) verabreicht wird.⁴⁻⁸

5-FU wird häufig als Infusion oder oral als Prodrug verabreicht. Im Plasma weist es eine Halbwertszeit von ca. zehn bis fünfzehn Minuten auf und erreicht bei kontinuierlicher Infusion innerhalb von zwei Stunden stationäre Konzentrationen. Bei konventioneller 5-FU-Therapie werden schwere Nebenwirkungen beobachtet, darunter gastrointestinale, neurologische, hämatologische und Schleimhaut-Toxizität.⁹ Studien zeigen, dass über 30% der behandelten Patienten eine dosislimitierende Toxizität aufweisen. Neuere Studien berichten außerdem von schweren Toxizitäten (Grad 3/4) und dem Tod von Patienten im Anschluss an eine Behandlung mit 5-FU. Laut Studienergebnissen weisen nur 40% bis 50% der Patienten mit schwerer Toxizität einen teilweisen oder schweren DPD- (Dihydropyrimidin-Dehydrogenase)-Enzymmangel auf, was zeigt, dass außer einem genetischen DPD-Defekt andere Faktoren den 5-FU-Spiegel beeinträchtigen können.¹⁰⁻¹⁵

Zahlreiche klinische Studien haben gezeigt, daß die Mehrheit der Patienten, die eine KOF-Dosierung erhielten, nicht im Zielbereich waren, die meisten der Patienten wurden unterdosiert.¹⁶⁻²³ Ebenso konnten klinische Studien zeigen, dass eine pharmakokinetisch (PK) gesteuerte Dosisanpassung der 5-FU-Konzentration im Blut zu reduzierter Toxizität, verbessertem allgemeinem Ansprechen und einem Anstieg der Überlebensrate führen kann.^{4-8, 16, 17, 19, 20, 22-38}

In Kombination mit anderen klinischen Informationen bietet die Überwachung der 5-FU-Spiegel Ärzten eine effektive Möglichkeit zur Anpassung der Dosierung, um eine optimale therapeutische Wirkung zu erzielen und subtherapeutische oder toxische Arzneimittelspiegel zu vermeiden.^{4-8,16,17,19,20,22-39} Mit reduzierter Toxizität kann die Behandlung der Patienten länger aufrecht erhalten werden. Derzeit kann die PK-Bewertung von 5-FU in Patienten nur mit Hilfe von physikalisch-analytischen Methoden wie HPLC (High Performance Liquid Chromatography)⁴⁰⁻⁴² oder LC-MS/MS (Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectroscopy) durchgeführt werden.^{34,42} Diese physikalischen Methoden sind zeitaufwändig, kostspielig und erfordern die Vorbereitung von Proben und den Einsatz von Vollzeitkräften; alle diese Faktoren schränken die allgemeine Anwendbarkeit eines PK-geleiteten Dosierungsansatzes ein.

Im Gegensatz dazu liefert ein homogener Immunoassay zur Bestimmung der 5-FU-Konzentration, unter Verwendung klinischer Analysegeräte, schnelle Ergebnisse in Korrelation mit physikalischen Methoden, die mit anderen Methoden zur therapeutischen Arzneimittelüberwachung, die seit über dreißig Jahren routinemäßig eingesetzt werden, vergleichbar sind. Der My5-FU-Assay bietet Onkologen eine praktische, kostengünstige und effiziente Methode zur Anpassung der 5-FU-Dosierung.

Verfahrensgrundsätze

Der My5-FU-Assay (US-Patent-Nr. 7,205,116) ist ein homogener, aus zwei Reagenzien bestehender Nanopartikel-Agglutination-Immunoassay zur Bestimmung von 5-FU in Humanplasma. Er basiert auf dem Prinzip der Messungsänderungen durch Streulicht oder Absorption, die bei der Aggregation von Nanopartikeln auftreten. Diese Agglutination wird im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 650 nm mit automatisierten klinischen Chemie- oder Immunoassay-Analysegeräten gemessen. Multivalente Arzneimittelkonjugate dienen als Bindungspartner für 5-FU-selektive Antikörper, die kovalent mit der Oberfläche von Nanopartikeln verbunden sind. Bei Abwesenheit von freiem 5-FU erzeugt diese Reaktion große Aggregate die Auflicht streuen und zu einer Zunahme der beobachteten Absorption führen. Wenn eine 5-FU-haltige Probe hinzugegeben wird, wird die Agglutinationsreaktion teilweise inhibiert. Antikörper, die an das 5-FU der Probe gebunden sind, stehen nicht zur Verfügung, um die Aggregation der Nanopartikel zu fördern, was die Streuung des Auflichts und die beobachtete Absorption der Lösung mindert. Somit wird eine klassische Inhibitionskurve im Hinblick auf die 5-FU-Konzentration erzeugt, wobei maximale Absorption bei niedrigen Arzneimittelkonzentrationen und minimale Absorption bei hohen Arzneimittelkonzentrationen auftritt. Die Änderungen von Streulicht oder Absorption als Funktion der Arzneimittelkonzentration ergibt eine konzentrationsabhängige Kurve.⁴³⁻⁴⁴

Reagenzien

My5-FU Assay REF 5FU-RGT	Anzahl x Volumen
Reagenz 1 R1 Reaktionspuffer, der Arzneimittelkonjugat, Protein und Puffer enthält	1 x 10.0 mL
Reagenz 2 R2 Nanopartikelreagenz, die an Nanopartikel gebundene monoklonale Antikörper in einer Pufferlösung enthält	1 x 10.0 mL

Vorsichts- und Warnhinweise

Nur zur Verwendung in der In-Vitro-Diagnostik.

Bei der Arbeit mit Laborchemikalien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen einzuhalten.

Befolgen Sie die Anweisungen zur Handhabung der Reagenzien. Eine unsachgemäße Vermischung der Reagenzien kann die Assay-Leistung beeinträchtigen.

Materialien menschlichen Ursprungs wurden mit von der FDA zugelassenen Methoden auf HIV1 und HIV2, Hepatitis B und Hepatitis C getestet, alle Ergebnisse waren negativ. Da jedoch keine Testmethode das potentielle Risiko einer Infektion völlig ausschließen kann, muss das Material ebenso vorsichtig wie Patientenproben gehandhabt werden. Sollte ein Kontakt stattgefunden haben, sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörde zu befolgen.

Alle Komponenten des My5-FU-Assays enthalten weniger als 0,1% Natriumazid. Für eine genaue Übersicht lesen Sie bitte den Reagenzabschnitt in dieser Packungsbeilage. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Betroffene Bereiche mit reichlich Wasser spülen. Bei Verschlucken der Reagenzien oder Kontakt mit den Augen ist sofort ein Arzt aufzusuchen. Beim Entsorgen dieser Reagenzien immer mit viel Wasser nachspülen, um eine Azidansammlung zu vermeiden.

Anweisung zur Handhabung und Lagerung

Die Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen gekühlt bei 2 - 8°C aufbewahren. Nicht einfrieren.

Die Reagenzien (R1 und R2) durch vorsichtiges fünfmaliges Umdrehen mischen; dabei Blasenbildung vermeiden. Anschließend die Reagenzien in das Analysegerät legen.

Die Reagenzien (R1 und R2) mischen, bevor sie in einen Analysegerät-spezifischen (sekundären) Reagenzienträger umgefüllt werden. Vor dem Einsetzen von Analysegerät-spezifischen (sekundären) Reagenzienträgern in das Analysegerät die Reagenzien (R1 und R2) durch vorsichtiges fünfmaliges Umdrehen mischen; dabei Blasenbildung vermeiden.

Indikationen für Stabilität

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung und Handhabung sind die Reagenzien bis zum Verfallsdatum stabil.

Entnahme und Handhabung der Proben

Mit dem My5-FU-Assay können Plasmaproben (EDTA oder Heparin) verwendet werden. Die Probe gegen Ende der Infusion, am besten 2 – 4 Stunden vor Infusionsende, entnehmen; dabei sicherstellen, dass die Pumpe während der Probenahme noch Lösung enthält. Bei Infusionen über 46 Stunden, entnehmen Sie die Probe frühestens 18 Stunden nach Infusionsstart. Die Anfangszeit der kontinuierlichen Infusion und die tatsächliche Entnahmezeit sollten aufgezeichnet werden.

Entnehmen Sie ≥ 2 ml Blut in einem EDTA- oder Heparinröhrchen. Die Blutprobe durch Venenpunktion oder eine periphere Infusionsleitung entnehmen. Hierdurch soll jegliche Kontamination durch das Infusionsmedikament vermieden werden. Die Blutprobe darf NICHT von der Infusionsleitung entnommen werden.

Probenstabilisator

Den My5-FU-Probenstabilisator sofort nach der Entnahme in das Entnahmegefäß injizieren und 3 Mal vorsichtig schwenken. Bei Verwendung des Stabilisators die Probe nicht auf Eis oder im Kühlschrank lagern. Die Probe innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme zentrifugieren. Plasma unter Vermeidung der Zellschicht oben vom Röhrchen abnehmen und das Plasma in ein verschließbares Sekundär-Röhrchen übertragen. Das Plasma muss frei von Zellen sein. Für eine Messung innerhalb von einer Woche, Probe bei 2 - 8°C oder Raumtemperatur lagern; für längeres Aufbewahren, Probe bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ einfrieren. Die Proben können ungekühlt verschickt werden. Das Labor über die Zeiten von Infusionsstart und -ende informieren. Eine vollständige Gebrauchsanweisung für den Probenstabilisator ist der Packungsbeilage für den My5-FU-Probenstabilisator zu entnehmen.

Kein Probenstabilisator

Die Verwendung des Probenstabilisators wird dringend empfohlen. Wenn der Probenstabilisator nicht verwendet wird, müssen die Proben innerhalb von 20 Minuten nach der Entnahme zentrifugiert werden, um das Plasma abzutrennen. Alternativ dazu kann die Probe sofort nach Entnahme auf Eis gelagert und innerhalb einer Stunde nach Entnahme zentrifugiert werden. Plasma unter Vermeidung der Zellschicht oben vom Röhrchen abnehmen (Kontaminierung des Plasmas mit Blutzellen kann 5-FU-Degradierung verursachen), und das Plasma in ein zweites Röhrchen mit Stopfen übertragen. Die Probe zur Messung innerhalb von einer Woche bei 2 - 8°C lagern; für längeres Lagern einfrieren ($\leq -20^{\circ}\text{C}$). Wenn die Probe an ein externes Testlabor versendet wird, muss die Plasmaprobe vor dem Versand für mindestens 16 Stunden eingefroren werden ($\leq -20^{\circ}\text{C}$), um eine Degradierung der Probe zu vermeiden. Die Proben können dann bei Umgebungstemperatur ins Labor geschickt werden.

Verfahren

Bereitgestellte Materialien:

REF 5FU-RGT – My5FU Assay

Weitere erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind:

REF 5FU-CAL – My5-FU Calibrator Kit

REF 5FU-CON – My5-FU Control Kit

REF 5FU-STB – My5-FU Sample Stabilizer Packs (20 kits) **REF** OR 5FU-STB-V– My5-FU Sample Stabilizer Vial

Geräte

Ein Umfüllen der Reagenzien in für das Analysegerät spezifische Reagenzienbehälter kann erforderlich sein.

Die Leistung von Geräteapplikationen, die nicht durch Saladax Biomedical, Inc. validiert wurden, wird nicht garantiert und muss vom Benutzer bestimmt werden.

Assay

Zur Durchführung des Assays siehe das gerätespezifische Applikationsblatt und die zugehörige Bedienungsanleitung des Analysegeräts.

Probenverdünnungsverfahren

Proben mit 5-FU Konzentrationen höher als 1.800 ng/ml können 1:5 verdünnt werden, um die obere Messbereichsgrenze auf 9.000 ng/ml zu erhöhen. Ein automatisches Verdünnungsprotokoll (nur durch Küvette) von 5-FU-Proben mit Wasser ist der Gebrauchsanleitung für das jeweilige Instrument zu entnehmen. Alternativ dazu können Proben, die außerhalb des Meßbereichs liegen, manuell mit deionisiertem Wasser im Verhältnis von 1:10 oder 1:100 oder mit dem Nullkalibrator im Verhältnis von 1:5 verdünnt und zur Analyse in den Probenhalter gestellt werden.

Kalibrierung

Der My5-FU-Assay erzeugt unter Verwendung des My5-FU-Kalibrator-Kits eine Kalibrationskurve für den Bereich von 0 bis 1.800 ng/ml. Die untere Nachweisgrenze von 5-FU in Plasma für den My5-FU-Assay beträgt 52 ng/ml.

Die Assay-Kalibrierung durch Messen der My5-FU-Kontrollen validieren.

Häufigkeit der Kalibrierung

Folgender Kalibrierungsplan wird empfohlen:

- Nach dem Wechsel einer Reagenz- Kit-Charge,
- Nach der Durchführung der monatlichen Instrumentenwartung,
- Entsprechend den Anforderungen der Qualitätskontrollverfahren.

Qualitätskontrolle

Das My5-FU-Kontroll-Kit enthält drei Level an Kontrollen mit niedriger, mittlerer und hoher 5-FU-Konzentration.

Jedes Labor sollte seine eigenen Kontrollbereiche und -frequenz festlegen. Gemäß guter Laborpraxis sollten an jedem Tag, an dem Patientenproben getestet werden, und bei jeder Kalibrierung, mindestens zwei Konzentrationen der Qualitätskontrolle getestet werden. Nach dem Wechsel von Reagenzien (Kit) oder Kontrollchargen sollten die Kontrollzielwerte und -bereiche neu festgelegt werden.

Ergebnisse und Erwartungswerte

Die Geräte-Software berechnet eine nicht lineare Best-Fit-Kurvengleichung, die verwendet wird, um eine Kalibrierungskurve im 5-FU-Konzentrationsbereich von 0 bis 1.800 ng/ml zu erzeugen. Diese Kurve wird auf dem Analysegerät gespeichert und benutzt, um Arzneimittelkonzentrationen in unbekanntem Proben unter Verwendung deren Absorptionen zu berechnen.

Begrenzungen des Verfahrens

Wie bei allen Analytbestimmungen muss der My5-FU-Assay zusammen mit Informationen aus klinischen Untersuchungen und anderen diagnostischen Verfahren verwendet werden.

Leistungsmerkmale für den My5-FU-Assay für andere Körperflüssigkeiten als Humanplasma mit EDTA oder Heparin wurden nicht etabliert.

Bei Proben mit den folgenden Zusätzen wurden keine signifikanten Störungen beobachtet:

Störende Substanz	Konzentration	
Rheumafaktor	500 IU/ml	
Gesamtprotein-Matrixeinfluß	12 g/dl	120 g/l
Ikterische Störungen	95 mg/dl	1624 µmol/l
Lipämische Störungen	1700 mg/dl	19 mmol/l
Hämolyse	1.000 mg/dL	

5-FU ist in Vollblut nicht stabil. Hämolyse muss vermieden werden.

Theophyllin weist bei einer Konzentration von 10.000 ng/ml im My5-FU-Assay eine Kreuzreaktivität von 4,6% auf. Bei Patienten, die Theophyllin einnehmen, kann eine erhöhte 5-FU-Konzentration gefunden werden. Theobromin, getestet in einer Konzentration von 20.000 ng/ml, zeigt eine Kreuzreaktivität von 2,2%. Bei Patienten, die vor oder während der Infusion Schokolade verzehrt haben, können erhöhte 5-FU Konzentrationen gefunden werden.

Wie bei allen Assays, die Mausantikörper verwenden, besteht die Möglichkeit von Störungen durch humane Anti-Mausantikörper (HAMA) in der Probe. Proben mit solchen Antikörpern können inkorrekte 5-FU-Ergebnisse erzeugen, die mit dem klinischen Profil des Patienten nicht vereinbar sind. Falls Sie einen solchen Fall vermuten, kontaktieren Sie den technischen Kundendienst von Saladax.

Erwartungswerte

Es wurde bisher keine genau definierte Beziehung zwischen 5-FU-Plasmaspiegeln und antineoplastischer Wirksamkeit etabliert. Kürzlich veröffentlichte Studien mit Kolorektalkarzinom-Patienten verwendeten einen AUC Zielbereich von 20

bis 24 oder bis 30 mg·h/L.^{18-21,23,38} AUC-Levels oberhalb 25 mg·h/l wurden mit erhöhtem Toxizitätsrisiko in Form von Durchfall, Hand-Fuß-Syndrom, Schleimhautentzündung, Mundhöhlenentzündung und Leukopenie in Zusammenhang gebracht.^{4,17,24-37}

Die Verwendung von 5-FU-AUC-Berechnungen, bei denen die AUC anhand der stationären 5-FU-Konzentration (Css), multipliziert mit der Dauer des 5-FU-Infusionszyklus, bestimmt wird, ist bei der Festlegung optimaler 5-FU-Einzeldosen nachweislich von Nutzen. Der AUC-Wert kann durch Multiplizieren der stationären Konzentration (Css) mit der Dauer der Infusion (in Stunden) berechnet werden:

$$C_{ss} \times \text{Infusionsdauer} = \text{AUC}$$

5-FU-Arzneimittelkonzentrationen dürfen nicht das einzige Mittel im therapeutischen Arzneimittel-Management sein. Der My5-FU-Assay muss zusammen mit Informationen aus klinischen Untersuchungen und anderen diagnostischen Verfahren verwendet werden. Die Patientenhistorie und der derzeitige Gesundheitszustand des Patienten, die Komplexität des klinischen Bildes, die individuellen Unterschiede bei der Empfindlichkeit gegenüber 5-FU und der toxischen Wirkungen von 5-FU, die gleichzeitige Verabreichung anderer Arzneimittel und eine Reihe anderer Faktoren können bewirken, dass die optimalen Blutkonzentrationen von 5-FU für jede Person anders ist. Jeder Patient muss vor Änderungen des Behandlungsplans einer umfassenden klinischen Untersuchung unterzogen werden. Außerdem müssen Ärzte ihre Patienten beim Start der Therapie und bei Dosisanpassungen aufmerksam überwachen. Angesichts der Heterogenität des klinischen Zustandes eines Patienten muss der Arzt den gewünschten Bereich des therapeutischen Managements basierend auf den eigenen Erfahrungen und den Bedürfnissen des Patienten festlegen. 5-FU-Konzentrationen für einzelne Patienten müssen anhand einer einzigen, konsistenten Methode bestimmt werden, um unklare Effekte zu minimieren, die durch Unterschiede in Kreuzreaktivität und der Erkennung von Metaboliten verursacht werden können.

Spezifische Leistungsmerkmale

Nachfolgend sind typische, mit dem Beckman (vormals Olympus) AU400 erzielte Leistungsdaten für den My5-FU-Assay aufgelistet. Individuelle Ergebnisse eines Labors können von diesen Daten abweichen.

Präzision

Die Präzision wurde gemäß der Beschreibung in CLSI Richtlinie EP5-A2 bestimmt.

Niedrige, mittlere und hohe 5-FU-Kontrollen und 4 Patientenprobenpools mit unterschiedlichen 5-FU-Spiegeln wurden 20 Tage lang an zwei Testzentren zweimal täglich mit 2 Assay-Chargen zweifach getestet. Die Mittelwerte wurden bestimmt, und die SA und der VK (%) innerhalb eines Laufs berechnet.

Die nachfolgenden Ergebnisse sind typische Ergebnisse von einer Reagenzcharge an einem Testzentrum.

Probentyp	Zugewiesener Wert (ng/ml)	N	Mittelwert (ng/ml)	Innerhalb eines Laufs		Gesamt	
				SA	%VK	SA	%VK
Kontrollen	225	80	223	5,5	2,5	11,5	5,2
	450	80	450	6,5	1,4	9,7	2,1
	900	80	910	10,4	1,1	14,7	1,6
Humanplasma	240	80	238	11,6	4,9	13,2	5,5
	470	80	475	8,5	1,8	12,1	2,6
	700	80	705	13,2	1,9	15,1	2,1
	1300	80	1341	18,6	1,4	27,0	2,0

Unteres Quantifizierungslimit (LoQ)

Dies wird als die geringste Konzentration des Medikaments definiert, die mit akzeptabler Genauigkeit und Präzision gemessen werden kann. Dieser Wert gilt als die gemessene Arzneimittelkonzentration, bei der der Assay-Variationskoeffizient nicht größer als 15% ist und die Wiederfindung 90 bis 110% beträgt. Um das LoQ zu bestimmen, wurden 3 negative Plasmaproben mit einer bekannten Menge an 5-FU gespickt, und die Arzneimittelmenge wurde mit

zwei Reagenzlosen über fünf Durchläufe vom Test quantifiziert (n = 5/Durchlauf). Als untere Bestimmungsgrenze wurden 85 ng/ml festgelegt.

Nachweisgrenze (LoD)

Wird als die niedrigste Arzneimittelkonzentration definiert, die mit einer Sicherheit von 95% erkannt werden kann. Um das LoD zu bestimmen, wurden 3 negative Plasmaproben mit einer bekannten Menge an 5-FU gespikt, und die Arzneimittelmenge wurde mit zwei Reagenzlosen über fünf Durchläufe vom Test quantifiziert (n = 5/Durchlauf). Die LoD wurde auf 52 ng/ml festgelegt.

Spezifität

5-FU-Metabolite und strukturell verwandte Verbindungen

Soweit nicht anderweitig angegeben, wurden 10.000 ng/ml jeder der nachfolgenden 5-FU-Metabolite oder strukturell verwandter Verbindungen zu 5-FU-freiem Plasma hinzugegeben und mit dem My5-FU-Assay gemessen. Die Kreuzreaktivität (%) des Assay für jede Verbindung ist unten angegeben.

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
Dihydro-5-Fluorouracil	<0,1
Dihydrouracil*	0,4
Eniluracil	0,9
Uracil	11,1
Thymidin	<0,1
5-Fluorouridin	<0,1
Uridin	<0,1
Pseudouridin*	<0,01
Tegafur	<0,1
Capecitabin*	<0,01
5'-Deoxy-5-Fluorouridin	<0,1
5'-Deoxy-5-Fluorocytidin	<0,1

*100.000 ng/ml getestete Konzentration

Häufig mitverabreichte Arzneimittel

Sofern nicht anderweitig angegeben, wurden 100.000 ng/ml jeder Zusammensetzung in 5-FU-freies Plasma oder in mit 1.000 ng/ml 5-FU gespiktem Plasma gespikt. Mit Ausnahme von Theophyllin mit einer Kreuzreaktivität von 4,6% im Assay und Theobromin mit einer Kreuzreaktivität von 2,2% wiesen alle Zusammensetzungen im Assay eine Kreuzreaktion von ≤ 1% auf.

Acetaminophen	Irinotecan*	Prednison
N-Acetylprocainamid	Kanamycin A	Procainamid
Allopurinol	Kanamycin B	Prochlorperazin
Amikacin	Leucovorin*	Quinidinsulfat
Ampicillin	Lidocain	Rifampicin
Azathioprin	Methotrexat	Salicylsäure
Koffein	Methylprednisolon	Spectinomycin
Carbamazepin	Morphinsulfat*	Streptomycinsulfat
Ceftriaxon	Oxaliplatin*	Theobromin**
Cephalosporin	Paraxanthin**	Theophyllin*
Erythromycin	Penicillin G	Tobramycin
Gemcitabin	Phenobarbital	Valproinsäure

Gentamycin	Phenytoln	Vancomycin
Hydrocortisol	Prednisolon	Xanthin

*10,000 ng/ml getestete Konzentration

**20,000 ng/ml getestete Konzentration

Wiederfindung

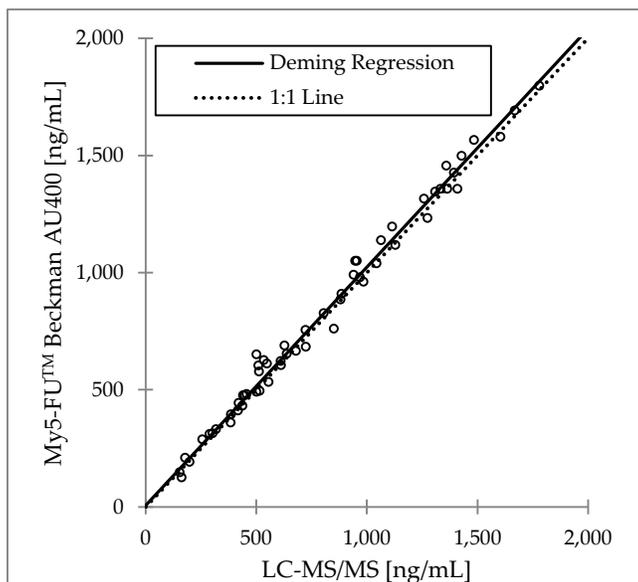
Zur Beurteilung der Wiederfindung wurde 5-FU in normale 5-FU-freie Plasmaproben und in Patientenproben mit einer bekannten 5-FU-Konzentration gegeben. Die prozentuale Wiederfindungsrate wurde durch Dividieren der beobachteten Konzentration jeder Probe durch die erwartete Konzentration des hinzugefügten 5-FU plus dem ursprünglich in der Probe vorhandenen 5-FU bestimmt. Die prozentualen Wiederfindungsraten betragen 96 - 108%.

Linearität nach Probenverdünnung

Zur Beurteilung der Assay-Linearität wurden 11 Proben mit 5-FU-Konzentrationen, die den Assay-Bereich abdecken, vorbereitet; hierzu wurde das Verdünnungsschema in CLSI Richtlinie EP6-A Vol. 23 Nr. 16 verwendet und mit 2 Assay-Chargen (n = 10) getestet. Die Linearität bei bestimmten Verdünnungen wurde als akzeptabel erachtet, wenn die prozentuale Abweichung innerhalb $\pm 10\%$ des Erwartungswerts für Konzentrationen von ≥ 150 ng/ml oder innerhalb von $\pm 15\%$ für Konzentrationen von < 150 ng/ml lag. Das Assay wurde über den Messbereich des Assay als linear befunden.

Methodenvergleich

Ein Vergleich zwischen dem Saladax My5-FU-Assay und LC-MS/MS wurde mit 57 Humanplasmaproben von Patienten, die 5-FU-Therapie erhalten, durchgeführt. Der Bereich der 5-FU-Konzentration gemessen mit dem My5-FU-Assay betrug 122 - 1.801 ng/ml mit einem Mittelwert von 816 ng/ml. Der Bereich der gemessenen 5-FU-Konzentration für die validierte LC-MS/MS-Referenzmethode betrug 141-1.810 ng/ml mit einem Mittelwert von 796 ng/ml. Die Ergebnisse der Deming-Regressionsanalyse sind unten gezeigt.



Steigung = 1,017
y-Schnittpunkt = 6,78
Korrelationskoeffizient (R) = 0,9925

Referenzen der Packungsbeilage:

1. Teva Parenteral Medicines, Inc. Aduracil. Full Prescribing Information. 2015
2. Pfister DG, Spencer S, Brizel DM, et al. Head and neck cancers, version 1.2015. J Natl Compr Canc Netw. 2015;13:847-55.
3. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. N Engl J Med. 2005;352:476-487.
4. Gamelin E, Boisdron-Celle M. Dose monitoring of 5-fluorouracil in patients with colorectal or head and neck cancer – status of the art. Crit Rev Oncol Hematol. 1999;30:71-79.
5. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Delva R, et al. Long-term weekly treatment of colorectal metastatic cancer with fluorouracil and leucovorin: results of a multicentric prospective trial of fluorouracil dosage optimization by pharmacokinetic monitoring in 152 patients. J Clin Oncol. 1998;16(4):1470-8.
6. Santini J, Milano G, Thyss A, et al. 5-FU therapeutic monitoring with dose adjustment leads to an improved therapeutic index in head and neck cancer. Br J Cancer. 1989;59(2):287-90.
7. Milano G, Etienne MC, Renee N, Thyss A, Schneider M, Ramaioli A, Demard F et al. Relationship between fluorouracil systemic exposure and tumor response and patient survival. J Clin Oncol. 1994;12(6):1291-5.
8. Fety R, Etienne MC, Renee N, et al. Clinical impact of pharmacokinetically-guided dose adaptation of 5-fluorouracil: results from a multicentric randomized trial in patients with locally advanced head and neck carcinomas. Clin Cancer Res. 1998;4:2039-2045.

9. Levy E, Piedbois P, Buysse M, et al. Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: Effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol.* 1998;16:3537–3541.
10. Milano G, McLeod HL. Can dihydropyrimidine dehydrogenase impact 5-fluorouracil-based treatment? *Eur J Cancer.* 2000;36:37-42.
11. Jansman FG, Sleijfer DT, Coenen JL, De Graaf JC, Brouwers JR. Risk factors determining chemotherapeutic toxicity in patients with advanced colorectal cancer. *Drug Saf.* 2000;23:255-78.
12. Diasio RB. Sorivudine and 5-fluorouracil; a clinically significant drug-drug interaction due to inhibition of dihydropyrimidine dehydrogenase. *Br J Clin Pharmacol.* 1998;46:1-4.
13. Johnson MR, Diasio RB. Importance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients exhibiting toxicity following treatment with 5-fluorouracil. *Adv Enzyme Regul.* 2001;41:151-7.
14. Ezzeldin H, Diasio R. Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency, a Pharmacogenetic Syndrome Associated with Potentially Life-Threatening Toxicity Following 5-Fluorouracil Administration. *Clin Colorectal Cancer.* 2004;4:181-189.
15. Milano G, Etienne M-C. Individualizing Therapy with 5-Fluorouracil Related to Dihydropyrimidine Dehydrogenase: Theory and Limits. *Ther Drug Monit.* 1996;18:335-340.
16. Capitain O, Asevoia A, Boisdron-Celle M, Poirier AL, Morel A, Gamelin E. Individual fluorouracil dose adjustment in folfox based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional body-area-surface dosing: A phase II, proof-of-concept study. *Clin Colorectal Cancer.* 2012;11:263-267.
17. Gamelin E, Jacob J, Merrouche Y, et al. Individual 5-fluorouracil dose adjustment based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional dosage: results of a multicenter phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:2099-2105.
18. Kaldate RR, Haregewoin A, Grier CE, Hamilton SA, McLeod HL. Modeling the 5-fluorouracil area under the curve versus dose relationship to develop a pharmacokinetic dosing algorithm for colorectal cancer patients receiving FOLFOX6. *Oncologist.* 2012;17:296-302.
19. Kline CL, Schiccitano A, Zhu J, et al. Personalized dosing via pharmacokinetic monitoring of 5-fluorouracil might reduce toxicity in early- or late-stage colorectal cancer patients treated with infusional 5-fluorouracil-based chemotherapy regimens. *Clin Colorectal Cancer.* 2014;13:119-126.
20. Patel JN, O'Neil BH, Deal AM, et al. A community-based multicenter trial of pharmacokinetically guided 5-fluorouracil dosing for personalized colorectal cancer therapy. *Oncologist.* 2014;19:959-965.
21. Braiteh FS, Salamone SJ, Li Y, et al. Pharmacokinetic (PK)-guided optimization of 5-fluorouracil (5FU) exposure in colorectal cancer (CRC) patients: U.S.-based clinical practices experience. *J Clin Oncol.* 2014;32:(suppl: abstr 3574).
22. Wilhelm M, Mueller L, Miller MC, et al. Prospective, multi-center study of 5-fluorouracil therapeutic drug management in metastatic colorectal cancer treated in routine clinical practice. *Clinical Colorectal Cancer.* 2016;15:381-388.
23. Saam J, Critchfield GC, Hamilton SA, Roa BB, Wenstrup RJ, Kaldate RR. Body surface area-based dosing of 5-fluorouracil results in extensive interindividual variability in 5-fluorouracil exposure in colorectal cancer patients on FOLFOX regimens. *Clin Colorectal Cancer.* 2011;10:203-206.
24. Hillcoat BL, McCulloch PB, Figueredo AT, et al. Clinical response and plasma levels of 5-fluorouracil in patients with colon cancer treated by drug infusion. *Br J Cancer.* 1978;38:719-724.
25. Seitz JF, Cano JP, Rigault JP, et al. Chimiothérapie des cancers digestifs étendus par le 5-Fluorouracile: relations entre la réponse clinique et la clairance plasmatique du médicament. *Gastroentérol Clin Biol.* 1983;7:374-380.
26. Thyss A, Milano G, Renée N, et al. Clinical pharmacokinetic study of 5-FU in continuous 5-day infusions for head and neck cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1986;16:64-66.
27. Milano G, Roman P, Khater P, et al. Dose versus pharmacokinetics for predicting tolerance to 5-day continuous infusion of 5-FU. *Int J Cancer.* 1988; 41:537-541.
28. Yoshida T, Araki E, Ligo M, et al. Clinical significance of monitoring serum levels of 5-fluorouracil by continuous infusion in patients with advanced colonic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1990;26:352-354.
29. Trump DL, Egorin MJ, Forrest A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil during 72 hour continuous infusion with and without dipyrindamole. *J Clin Oncol.* 1991;9:2027-2035.
30. Fety R, Rolland F, Barberi-Heyob M, et al. Clinical randomized study of 5-FU monitoring versus standard dose in patients with head and neck cancer: preliminary results. *Anticancer Res.* 1994;14:2347-2352.
31. Gamelin EC, Danquechin-Dorval EM, Dumesnil YF, et al. Relationship between 5-fluorouracil dose intensity and therapeutic response in patients with advanced colorectal cancer receiving infusional therapy containing 5-FU. *Cancer.* 1996;77:441-451.
32. Vokes EE, Mick R, Kies MS, et al. Pharmacodynamics of fluorouracil-based induction chemotherapy in advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol.* 1996;14:1663–1671.
33. Ychou M, Duffour J, Kramar A, et al. Individual 5-FU dose adaptation in metastatic colorectal cancer: results of a phase II study using a bimonthly pharmacokinetically intensified LV5FU2 regimen. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2003;52(4):282-290.
34. Bertino J, Fleisher M, Beumer JH, et al. Highlights from: 5-fluorouracil drug management pharmacokinetics and pharmacogenomics workshop; Orlando, Florida; January 2007. *Clin Colorectal Cancer.* 2007;6:407-422.
35. Capitain O, Asevoia A, Boisdron-Celle M, Soulié P, Morel A, Gamelin E. Influence of pharmacogenetic polymorphisms on 5-fluorouracil and irinotecan efficacy and tolerance in patients treated for advanced colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol Gastrointest Cancers Symp.* [Abstract 429] 2008.
36. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Guerin-Meyer V, Poirier A, Berger V, Morel A. 5-FU dose monitoring and prevention of oxaliplatin-induced neurotoxicity in FOLFOX 4 regimen. Results of a phase II study. *Proc Am Soc Clin Oncol Gastrointest Cancers Symp.* [Abstract 431] 2008.
37. Capitain O, Boisdron-Celle M, Poirier A-L, Abadie-Lacourtoisie S, Morel A, Gamelin E. The influence of fluorouracil outcome parameters on tolerance and efficacy in patients with advanced colorectal cancer. *Pharmacogenomics J.* 2008;8:256-267.
38. Escoriza J, Aldaz A, Calvo E, Giraldez J. Simple and sensitive determination of 5-fluorouracil in plasma by high-performance liquid chromatography. Application to clinical pharmacokinetic studies. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999;736:97-102.
39. Beumer JH, Chu E, Allegra C, et al. Therapeutic Drug Monitoring in Oncology: International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Recommendations for 5-Fluorouracil Therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2019;105(3):598-613.
40. Di Paolo A, Danesi R, Ciofi L, et al. Improved analysis of 5-Fluorouracil and 5,6-dihydro-5-Fluorouracil by HPLC with diode array detection for determination of cellular dihydropyrimidine dehydrogenase activity and pharmacokinetic profiling. *Ther Drug Monit.* 2005;27:362-8.
41. Remaud G, Boisdron-Celle M, Hameline C, Morel A, Gamelin E. An accurate dihydrouracil/uracil determination using improved high performance liquid chromatography method for preventing fluoropyrimidines-related toxicity in clinical practice. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005;823:98-107.
42. Kosovec JE, Egorin MJ, Gjurich S, Beumer JH. Quantitation of 5-fluorouracil (5-FU) in human plasma by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008;22:224-230.
43. McNally AJ, Goc-Szkutnicka K, Li Z, Pilcher I, Polakowski S, Salamone SJ. An OnLine Immunoassay for LSD: Comparison with GC-MS and the Abuscreen RIA. *J Anal Toxicol.* 1996;20:404-408.
44. Li Z, Goc-Szkutnicka K, McNally AJ, et al. Synthesis of New d-Propoxyphene Derivatives and the Development of a Microparticle-Based Immunoassay for the Detection of Propoxyphene and Norpropoxyphene. *Bioconj Chem.* 1997; 8:896-905.