

# My5-FU<sup>®</sup>

## 5-Fluorouracil (My5-FU<sup>™</sup>) Assay Saggio 5-Fluorouracil My5-FU<sup>™</sup>

Assistenza clienti:

Telefono: +1 (610) 419-6731

Fax: +1 (484) 547-0590

Email: Techsupport@saladax.com

MyCareTests.com

### Legenda dei simboli usati

<b>IVD</b>	Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>		Prima dell'utilizzo, consultare le istruzioni d'uso
<b>REF</b>	Codice prodotto		Data di scadenza
<b>LOT</b>	Codice lotto		Limiti di temperatura
	Produttore	 (N) x	Prima dell'uso capovolgere delicatamente N volte i reagenti (R1 e R2)
<b>R1</b>	Reagente 1	<b>R2</b>	Reagente 2
<b>EC</b> <b>REP</b>	Rappresentante autorizzato per la Comunità europea		
<b>CH</b> <b>REP</b>	Rappresentante autorizzato per la Svizzera		



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

### Uso previsto

Il saggio Saladax 5-Fluorouracil (My5-FU) è un dispositivo medico-diagnostico *in vitro* destinato alla determinazione quantitativa di 5-FU nel plasma umano mediante analizzatori automatici di chimica clinica, come ausilio nella gestione della terapia a base di 5-FU.

### Sommario e spiegazione del test

Il 5-FU (Acrucil, tra altri) è un agente chemioterapico usato nel trattamento di numerose forme di tumore solido, specialmente nei tumori del colon-retto, stomaco, seno, pancreas, testa e collo.<sup>1-2</sup> Da quando fu sviluppato, nel 1957, è stato la colonna portante del trattamento del cancro al colon-retto.<sup>3</sup> Le vie metaboliche del 5-FU sono state oggetto di numerosi studi. Numerosi studi hanno indicato un'elevata variabilità individuale del metabolismo di 5-FU. Le concentrazioni ematiche di 5-FU possono variare di oltre 10 volte, nonostante la somministrazione di un dosaggio uguale per area di superficie corporea (BSA).<sup>4-8</sup>

© 2017 - 2023 Saladax Biomedical, Inc.

My5-FU<sup>™</sup> è un marchio di fabbrica Saladax Biomedical, Inc.

Italiano 1/9

PI 5FU-RGT-IT, Rev 01

Il 5-FU viene generalmente somministrato per infusione oppure per via orale come profarmaco. Nel plasma, ha un'emivita di circa dieci - quindici minuti e raggiunge concentrazioni allo steady state entro due ore di infusione continua. Durante il trattamento convenzionale con 5-FU, sono stati riscontrati effetti collaterali gravi, quali tossicità gastrointestinale, neurologica, ematologica e delle mucose.<sup>9</sup> Alcuni studi hanno dimostrato che oltre il 30% dei pazienti trattati presenta un livello di tossicità che comporta di limitarne il dosaggio. Studi recenti hanno inoltre documentato tossicità grave (grado 3/4) e morte a seguito di trattamento con 5-FU. La ricerca suggerisce anche che solo dal 40% al 50% dei pazienti con tossicità grave presenta deficit parziale o profondo dell'enzima diidropirimidina deidrogenasi (DPD), il che dimostra l'esistenza di altri fattori, oltre a un deficit genetico in grado di influenzare i livelli di 5-FU.<sup>10-15</sup>

Gli studi clinici hanno generalmente indicato che la maggior parte dei pazienti non rientra nel range terapeutico target se sottoposta a dosaggio con RSA e che, in effetti, alla maggior parte di loro veniva somministrato un dosaggio insufficiente.<sup>16-23</sup> I dati clinici dimostrano anche che la regolazione del dosaggio su base farmacocinetica (PK) dei livelli ematici di 5-FU può determinare un calo della tossicità, un miglioramento della risposta in generale e un aumento della sopravvivenza.<sup>4-8,16,17,19,20,22,24-38</sup>

In combinazione con altri dati clinici, il monitoraggio dei livelli di 5-FU offre ai medici uno strumento efficace di supporto alla gestione del dosaggio, così da conseguire un effetto terapeutico ottimale, evitando al contempo livelli di farmaco tossici o sub-terapeutici.<sup>4-8,16,17,19,20,22,24-39</sup> Riducendo la tossicità, i pazienti possono seguire il trattamento per periodi di tempo più lunghi. Oggi, la valutazione farmacocinetica di 5-FU nei pazienti può essere eseguita soltanto con metodiche di analisi fisiche, come, per esempio, la cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC)<sup>40-42</sup> o la spettroscopia di massa in tandem con la cromatografia liquida (LC-MS/MS).<sup>34,42</sup> Queste tecniche fisiche sono dispendiose in termini di tempo, costose, richiedono la preparazione dei campioni e tecnici a tempo pieno e tutto questo impedisce di adottare su vasta scala un approccio alla gestione del dosaggio guidato da valutazione farmacocinetica.

Per contro, un immunodosaggio omogeneo per determinare i livelli di 5-FU fornisce risultati qualitativi rapidi associati a metodiche fisiche che utilizzano analizzatori clinici di routine, comparabili ad altre determinazioni di monitoraggio farmacologico terapeutico, ampiamente usate nella pratica clinica da oltre trent'anni. Il saggio My5-FU fornisce uno strumento pratico, economico e rapido, in grado di aiutare gli oncologi a gestire il dosaggio di 5-FU.

## Principi della procedura

Il saggio My5-FU (brevetto USA n. 7.205.116) è un immunodosaggio bireagente omogeneo ad agglutinazione di nanoparticelle usato per l'individuazione di 5-FU nel plasma umano. Il dosaggio si basa sul principio della misurazione delle variazioni della luce diffusa o dell'assorbanza risultante dall'aggregazione delle nanoparticelle. Questa aggregazione si misura a lunghezze d'onda comprese tra 400 e 650 nm, con l'ausilio di analizzatori automatici di chimica clinica o immunodosaggi. I coniugati multivalenti fungono da elemento legante con gli anticorpi selettivi per 5-FU legati covalentemente alla superficie di nanoparticelle. In assenza di 5-FU libero, questa reazione crea grossi aggregati, generando una soluzione che diffonde luce incidente e determina un aumento nell'assorbimento osservato della soluzione stessa. L'introduzione di un campione contenente 5-FU inibisce parzialmente la reazione di agglutinazione. Gli anticorpi legati al campione di farmaco non sono più disponibili per indurre l'aggregazione di nanoparticelle, con conseguente minore diffusione di luce incidente e riduzione dell'assorbimento osservato della soluzione. Si ottiene quindi una classica curva di inibizione relativa alla concentrazione di 5-FU, in cui l'assorbimento massimo ha luogo a bassi livelli di farmaco mentre l'assorbimento minimo si verifica a livelli elevati. Il monitoraggio delle variazioni nella luce diffusa o nell'assorbanza in funzione dei livelli di farmaco, determina una curva concentrazione-dipendente.<sup>43-44</sup>

## Reagenti

My5-FU Assay <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span> 5FU-RGT	Quantità × Volume
Reagente 1 <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">R1</span> Tampone di reazione contenente farmaco coniugato, proteina e tampone	1 × 10,0 mL
Reagente 2 <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">R2</span> Nanoparticella reattiva contenente un anticorpo monoclonale legato a nanoparticelle in una soluzione tamponata.	1 × 10,0 mL

### ***Precauzioni e avvertenze***

Per solo uso diagnostico in vitro.

Adottare le precauzioni convenzionali richieste per la manipolazione di tutti i reagenti da laboratorio.

Seguire le istruzioni per la manipolazione dei reagenti. Una inadeguata miscelazione dei reagenti può influenzare negativamente il risultato della prova.

I materiali di origine umana sono stati testati per HIV1 e HIV2, epatite B e C con metodiche approvate dall'FDA e sono risultati negativi. Tuttavia, dato che nessun metodo di analisi può escludere con assoluta certezza il rischio potenziale di infezione, il materiale deve essere manipolato con la stessa cautela riservata ai campioni clinici. In caso di esposizione, seguire le direttive prescritte dalle autorità sanitarie competenti.

Tutti i componenti del saggio My5-FU contengono una percentuale di azoturo di sodio inferiore allo 0,1%. Per l'elenco specifico, fare riferimento alla sezione dei reagenti del presente foglietto illustrativo. Evitare il contatto con la pelle e con membrane mucose. In caso di contatto, lavare le aree interessate con abbondanti quantità d'acqua. In caso di ingestione dei reagenti, o di loro contatto con gli occhi, consultare immediatamente un medico. Smaltire i reagenti usando sempre abbondanti quantità di acqua per evitare accumuli di azoturo.

### ***Istruzioni per la manipolazione e la conservazione***

Conservare reagenti, calibratori e controlli in frigorifero alla temperatura di 2-8 °C. Non congelare.

Miscelare i reagenti (R1 e R2) capovolgendo il flacone delicatamente cinque volte, evitando la formazione di bolle. Posizionarli poi sull'analizzatore.

Miscelare i reagenti versandoli in qualsiasi contenitore di reagenti (secondari) specifico per analizzatori. Prima di posizionare i contenitori dei reagenti (secondari) specifici dell'analizzatore, miscelare i reagenti rovesciando il flacone da tre a cinque volte, evitando la formazione di bolle.

### ***Indicazioni di stabilità***

I reagenti sono stabili sino alla data di scadenza, se conservati e manipolati secondo le istruzioni.

### **Raccolta e manipolazione dei campioni**

Con il saggio My5-FU è possibile usare campioni di plasma (EDTA o eparina). Prelevare il campione verso la fine dell'infusione, preferibilmente 2 – 4 ore prima del suo termine; assicurarsi tuttavia che la pompa contenga ancora della soluzione durante il prelievo del campione. Per infusioni di 46 ore raccogliere il campione almeno 18<sup>18</sup> ore dopo l'inizio dell'infusione. Registrare l'ora di inizio dell'infusione continua e l'ora effettiva del campionamento.

Raccogliere almeno 2 ml di sangue in una provetta di eparina o EDTA. Prelevare il campione ematico mediante venipuntura o attraverso una linea endovenosa periferica. Questo serve a evitare la contaminazione da parte del farmaco infuso. NON raccogliere il campione ematico dalla linea endovenosa dell'infusione.

### ***Stabilizzatore per campioni***

Iniettare nella provetta di raccolta lo stabilizzatore per campioni My5-FU immediatamente dopo il prelievo e capovolgerla 3 volte con attenzione. Quando si usa lo stabilizzatore, non collocare il campione sul ghiaccio e non refrigerarlo. Centrifugare il campione entro 24 ore dal prelievo. Aspirare il plasma dalla parte superiore della provetta evitando lo strato di cellule; trasferirlo quindi in una provetta secondaria con tappo. Il plasma deve essere esente da cellule. Conservare il campione di plasma a 2 - 8 °C o a temperatura ambiente fino a una settimana o congelarlo ( $a \leq -20$  °C) se si prevede di conservarlo per un periodo di tempo più lungo. Il campione può essere spedito a temperatura ambiente. Comunicare al laboratorio i tempi di inizio e fine dell'infusione. Per le istruzioni complete per l'uso dello stabilizzatore per campioni, consultare il foglietto illustrativo incluso nella confezione dello stabilizzatore per campioni My5-FU.

### ***Nessun stabilizzatore per campioni***

Si raccomanda espressamente l'uso dello stabilizzatore per campioni. Se non si utilizza lo stabilizzatore per campioni, centrifugare i campioni entro venti minuti dal prelievo per isolare il plasma. In alternativa, disporre i campioni su ghiaccio subito dopo il prelievo e centrifugarli entro un'ora. Aspirare il plasma dalla parte superiore della provetta, evitando di disturbare lo strato cellulare (la contaminazione del plasma con cellule ematiche può causare la degradazione

del 5-FU), e trasferirlo in una provetta secondaria con tappo. Conservare il campione di plasma a 2 - 8 °C fino a una settimana o congelarlo (a  $\leq -20$  °C) se si prevede di conservarlo per un periodo di tempo più lungo. Se il campione deve essere inviato ad un laboratorio di analisi esterno, congelare (a  $\leq -20$  °C) il campione di plasma per almeno 16 ore prima della spedizione al fine di ridurre la degradazione. I campioni possono poi essere spediti al laboratorio a temperatura ambiente.

## **Procedura**

### ***Materiali forniti:***

**REF** 5FU-RGT – My5FU Assay

### ***Altri materiali necessari, ma non forniti***

**REF** 5FU-CAL – My5-FU Calibrator Kit

**REF** 5FU-CON – My5-FU Control Kit

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

### ***Strumenti***

Potrebbe essere necessario trasferire i reagenti in contenitori per reagenti specifici per l'analizzatore.

Le prestazioni delle applicazioni non convalidate da Saladax Biomedical, Inc. non vengono garantite e devono essere definite dall'utente.

### ***Saggio***

Per l'analisi del saggio, si rimanda alla scheda di applicazione specifica dello strumento e all'appropriato manuale per l'operatore dell'analizzatore.

### ***Procedura di diluizione del campione***

I campioni che contengono concentrazioni di 5-FU superiori a 1800 ng/mL possono essere diluiti 1:5 per fornire un range superiore pari a 9000 ng/mL. Per utilizzare un protocollo di diluizione automatica (solo cuvetta) di campioni 5-FU con acqua, consultare il manuale d'uso dello strumento. In alternativa, i campioni fuori range possono essere diluiti manualmente 1:10 o 1:100 con acqua deionizzata, oppure 1:5 nel calibratore 0 ng/mL e posti nell'apposito rack per l'analisi.

### ***Calibrazione***

Utilizzando il My5-FU Calibrator Kit, il saggio My5-FU genera una curva di calibrazione con un range 0 - 1.800 ng/mL. La concentrazione minima rilevabile di 5-FU nel plasma per il saggio My5-FU è 52 ng/mL.

Validare la calibrazione del dosaggio testando i controlli My5-FU.

### ***Frequenza di calibrazione***

La calibrazione è raccomandata:

- dopo la sostituzione di un lotto (kit) di calibratori o reagenti;
- dopo l'esecuzione della manutenzione mensile dello strumento;
- ogni qualvolta necessario, secondo le procedure di controllo di qualità.

### ***Controllo di qualità***

Il My5-FU Control Kit contiene tre livelli di controlli, a concentrazioni basse, medie e alte di 5-FU.

Ogni laboratorio deve stabilire i propri range e le frequenze di controllo. Secondo la buona pratica di laboratorio, almeno due concentrazioni di controllo di qualità devono essere analizzate ogni giorno in cui si esegue il dosaggio dei campioni dei pazienti e ogni volta che si esegue la calibrazione. Rivalutare i target e i range dei controlli dopo la sostituzione di un lotto di controlli o di (kit) reagenti.

## Risultati e valori attesi

Il software strumentale calcola un'equazione della curva non lineare best-fit, che viene usata per generare una curva di calibrazione che va da 0 a 1.800 ng/mL di concentrazione di 5-FU. Questa curva viene memorizzata sull'analizzatore e le concentrazioni di farmaco nei campioni sconosciuti sono calcolate in base a questa curva usando i valori di assorbanza generati per ciascun campione.

### Limiti della procedura

Come con tutte le determinazioni di analiti, il saggio My5-FU deve essere usato in combinazione con i dati forniti dalla valutazione clinica e da altre procedure diagnostiche.

Le caratteristiche prestazionali per il saggio My5-FU non sono state stabilite per fluidi corporei diversi da plasma umano contenente EDTA o eparina.

Non sono state osservate interferenze significative da campioni con le seguenti patologie:

Interferente	Livello	
Fattore reumatoide	500 IU/mL	
Effetto matrice proteica totale	12 g/dL	120 g/L
Interferenza da ittero	95 mg/dL	1624 µmol/L
Interferenza da lipemia	1700 mg/dL	19 mmol/L
Emolisato	1000 mg/dL	

Il 5-FU non è stabile nel sangue intero. Evitare l'emolisi.

Nel saggio 5-FU, la reattività incrociata della teofillina, analizzata a 10.000 ng/mL, è del 4,6%. Nei campioni di pazienti trattati con teofillina è possibile osservare livelli elevati di 5-FU. La teobromina, quando sottoposta a test a 20.000 ng/mL ha dimostrato una reattività incrociata del 2,2%. Nei campioni di pazienti che hanno mangiato cioccolato durante o poco dopo l'infusione è possibile osservare livelli elevati di 5-FU.

Come per qualsiasi saggio che utilizza anticorpi murini, esiste la possibilità di interferenze da parte degli anticorpi umani antimurini (HAMA) nel campione. I campioni contenenti tali anticorpi sono potenzialmente in grado di generare risultati 5-FU errati, incompatibili con il profilo clinico del paziente. Qualora si sospetti tale eventualità, rivolgersi all'Assistenza tecnica Saladax.

### Valori attesi

Non è stata accertata alcuna relazione precisa tra i livelli plasmatici di 5-FU e l'efficacia antineoplastica. Recenti studi clinici nel tumore del colon-retto hanno utilizzato un range di AUC per il 5-FU target da 20 a 24 o fino a 30 mg-h/L.<sup>18-21,23,38</sup> Livelli di AUC maggiori di 25 mg-h/L sono stati associati a un maggiore rischio di tossicità sotto forma di diarrea, sindrome mano-piede, mucosite, stomatite e leucopenia.<sup>4,17,24-37</sup>

L'uso di calcoli dell'AUC plasmatica di 5-FU in cui l'AUC è determinata dalla concentrazione di 5-FU in steady state (C<sub>ss</sub>), moltiplicata per la durata del ciclo di infusione di 5-FU, si è dimostrato utile nella definizione delle dosi individuali ottimali di 5-FU. L'AUC può essere calcolata moltiplicando la C<sub>ss</sub> per la durata (ore) di infusione:

$$C_{ss} \times \text{durata dell'infusione} = \text{AUC}$$

Le concentrazioni di 5-FU non devono costituire l'unico sistema di gestione terapeutica del farmaco. Il saggio deve essere usato in combinazione con i dati forniti dalla valutazione clinica e da altre procedure diagnostiche. Le condizioni mediche attuali e precedenti del paziente, la complessità dello stato clinico, le differenze individuali di sensibilità al 5-FU e gli effetti tossici del 5-FU, la cosomministrazione di altri farmaci e molti altri fattori, possono determinare concentrazioni ottimali ematiche di 5-FU diverse per ogni soggetto. Ogni paziente deve essere sottoposto a una valutazione clinica completa prima di modificare il piano di trattamento; i medici devono inoltre monitorare attentamente i pazienti nella fase iniziale della terapia e a ogni regolazione della dose. Data l'eterogeneità dello stato clinico dei pazienti, i medici devono stabilire il range di gestione terapeutica desiderato in base alla propria esperienza e ai requisiti clinici del

paziente. Le concentrazioni di 5-FU per i singoli pazienti devono essere stabilite adottando un unico metodo uniforme, allo scopo di ridurre al minimo gli effetti fuorvianti associati a reattività crociata e rilevazione dei metaboliti.

### Caratteristiche prestazionali specifiche

Seguono le caratteristiche prestazionali tipiche del saggio My5-FU ottenute su un dispositivo Beckman (precedentemente Olympus) AU400. È possibile che i risultati ottenuti in altri laboratori differiscano da questi dati.

#### Precisione

La precisione è stata determinata come indicato nella guida CLSI Guideline EP5-A2.

Controlli bassi, medi e alti di 5-FU e 4 pool di campioni clinici contenenti livelli variabili di 5-FU sono stati analizzati in duplicato due volte al giorno per venti giorni, in due centri, usando 2 lotti di saggi. Sono state determinate le medie e calcolate deviazione standard (SD) e percentuali dei coefficienti di variazione (% CV) totali e intra-sessione.

Di seguito sono riportati i risultati rappresentativi per un lotto di saggi in un centro.

Tipo di campione	Valore assegnato (ng/mL)	N	Media (ng/mL)	Intra-sessione		Totale	
				SD	%CV	SD	%CV
Controlli	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
Plasma umano	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

#### Limite inferiore di quantificazione (LLOQ)

Si intende la concentrazione di farmaco più bassa misurabile con precisione e accuratezza accettabili. Corrisponde alla concentrazione misurata del farmaco alla quale il coefficiente di variazione del saggio non è superiore al 15%, e il recupero è del 90-110%. Per determinare il valore LoQ, 3 campioni di plasma negativi sono stati arricchiti con una quantità nota di 5-FU e il farmaco è stato quantificato mediante il saggio utilizzando 2 lotti di reagenti nel corso di cinque sessioni (n=5/sessione). Il limite inferiore di quantificazione (LoQ) è risultato pari a 85 ng/mL.

#### Limite di rilevazione (LoD)

Viene definito come la minima concentrazione di farmaco rilevabile con il 95% di sicurezza. Per determinare il valore LoD, 3 campioni di plasma negativi sono stati arricchiti con una quantità nota di 5-FU e il farmaco è stato quantificato mediante il saggio utilizzando 2 lotti di reagenti nel corso di cinque sessioni (n=5/sessione). Il valore di LoD è risultato pari a 52 ng/mL.

#### Specificità

##### Metaboliti di 5-FU e composti strutturalmente correlati

Salvo altrimenti indicato, 10.000 ng/mL di ciascuno dei seguenti metaboliti di 5-FU o composti strutturalmente correlati, sono stati addizionati a plasma privo di 5-FU e analizzati usando il saggio My5-FU. La % di reattività incrociata nel saggio per ogni composto è indicata di seguito.

Composto	% reattività crociata
Diidro-5-fluorouracile	<0,1
Diidrouracile*	0,4
Eniluracile	0,9
Uracile	11,1

Composto	% reattività crociata
Timidina	<0,1
5-fluorouridina	<0,1
Uridina	<0,1
Pseudouridina*	<0,01
Tegafur	<0,1
Capecitabina*	<0,01
5'-deossi-5-fluorouridina	<0,1
5'-deossi-5-fluorocitidina	<0,1

\*Concentrazione testata di 100.000 ng/mL

#### Comuni farmaci cosomministrati

Salvo altrimenti indicato, 100.000 ng/mL di ogni composto sono stati addizionati in plasma privo di 5-FU o in plasma arricchito con 1.000 ng/mL di 5-FU. Ad eccezione della teofillina, che nel saggio ha presentato una reattività incrociata del 4,6%, e della teobromina, con una reattività del 2,2%, tutti i composti hanno evidenziato nel saggio una reattività crociata  $\leq 1\%$ .

Acetaminofene (paracetamolo)	Irinotecan*	Prednisone
N-acetilprocainamide	Kanamicina A	Procainamide
Allopurinolo	Kanamicina B	Proclorperazina
Amikacina	Leucovorin*	Chinidina solfato
Ampicillina	Lidocaina	Rifampicina
Azatioprina	Metotrexato	Acido salicilico
Caffeina	Metilprednisolone	Spectinomina
Carbamazepina	Morfina solfato	Streptomicina solfato
Ceftriaxone	Ossaliplatino*	Teobromina**
Cefalosporina	Paraxantina**	Teofillina*
Eritromicina	Penicillina G	Tobramicina
Gemicitabina	Fenobarbital	Acido valproico
Gentamicina	Fenitoina	Vancomicina
Idrocortisolo	Prednisolone	Xantina

\*Concentrazione testata di 10.000 ng/mL

\*\*Concentrazione testata di 20.000 ng/mL

#### **Recupero**

Per valutare il recupero, 5-FU è stato aggiunto a campioni di plasma normale privo di 5-FU e a campioni clinici contenenti una concentrazione nota di 5-FU. La percentuale di recupero è stata determinata dividendo la concentrazione osservata di ogni campione per la concentrazione attesa del 5-FU aggiunto più il 5-FU presente nel campione. Il recupero percentuale si è attestato tra il 96 e il 108%.

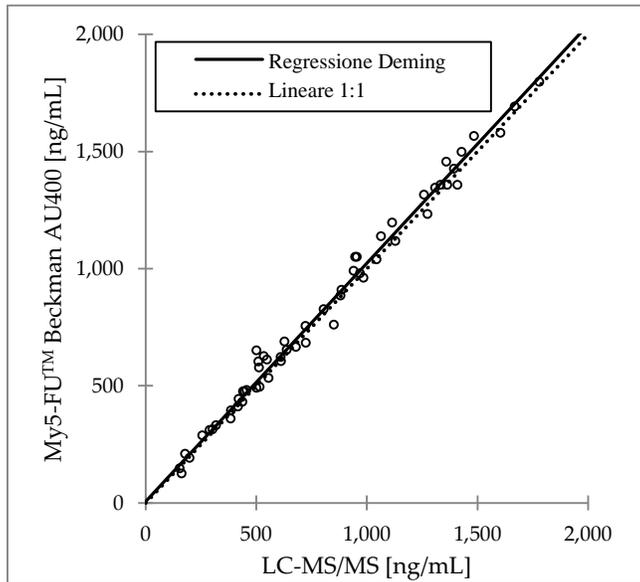
#### **Linearità per diluizione del campione**

Per valutare la linearità del saggio, sono stati preparati da 11 campioni con concentrazioni di 5-FU su tutto il range del saggio, usando lo schema di diluizione illustrato nella linea guida omologata CLSI Approved Guideline EP6-A vol. 23 No. 16 e sono stati testati (n = 10) con 2 lotti di saggi. La linearità a diluizioni specifiche è stata considerata accettabile in caso

di deviazione percentuale rientrante in un range  $\pm 10\%$  del valore atteso per le concentrazioni  $\geq 150$  ng/mL o  $\pm 15\%$  per le concentrazioni  $< 150$  ng/mL. Il saggio è risultato lineare su tutto il range refertabile.

### Comparazione delle metodiche

È stata effettuata una comparazione dei saggi Saladax My5-FU e LC-MS/MS, usando 57 campioni di plasma umano prelevati da pazienti sottoposti a terapia con 5-FU. Il range di concentrazione di 5-FU per il saggio My5-FU, è stato di 122-1.801 ng/mL, con una media di 816 ng/mL. Il range di concentrazione di 5-FU per la metodica di riferimento validata LC-MS/MS è stato di 141-1.810 ng/mL, con una media di 796 ng/mL. Seguono i risultati dell'analisi di regressione Deming.



Curva = 1,017  
Intercetta y = 6,78  
Coefficiente di correlazione (R) = 0,9925

### Bibliografia per il foglietto illustrativo

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, Buyse 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, Asevoaia 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 colonic 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, Forrester A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil during 72 hour continuous infusion with and without dipyrindamol. *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. Lee JJ, Beumer JH, Chu E. Therapeutic drug monitoring of 5-fluorouracil. *Cancer chemother and pharmacol.* 2016;78:447-64.
38. Escoriaza 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-Szcutnicka 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-Szcutnicka 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.