

# My5-FU<sup>®</sup>

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

**Apoio ao cliente:**






Telefone: +1 (610) 419-6731

Fax: +1 (484) 547-0590

E-mail: Techsupport@saladax.com

MyCareTests.com

**Significado dos símbolos utilizados**

<b>IVD</b>	Dispositivo de diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as Instruções de utilização
<b>REF</b>	Número de catálogo		Prazo de validade
<b>LOT</b>	Código do lote		Limitação de temperatura
	Fabricante	 (N) x	Inverta suavemente os reagentes (R1 e R2) N vezes antes de utilizar
<b>R1</b>	Reagente 1	<b>R2</b>	Reagente 2
<b>CH</b> <b>REP</b>	Representante Autorizado na Suíça		
<b>EC</b> <b>REP</b>	Representante autorizado na Comunidade Europeia		

Saladax Biomedical, Inc.  
116 Research Drive  
Bethlehem, PA 18015  
USAEMERGO EUROPE  
Westervoortsedijk 60,  
6827 AT Arnhem  
The NetherlandsCasus Switzerland GmbH  
Hinterbergstrasse 49  
6312 Steinhausen  
Switzerland**Utilização prevista**

O teste Saladax 5-Fluorouracil (My5-FU) é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destinado à determinação quantitativa de 5-FU em plasma humano utilizando analisadores de química clínica automáticos como ajuda na gestão da terapêutica de 5-FU.

**Resumo e explicação do teste**

5-FU (Adrucil, entre outros) é um agente quimioterapêutico utilizado no tratamento de vários tumores sólidos, especialmente em casos de cancro colorretal, do estômago, da mama, do pâncreas, na região da cabeça e do pescoço.<sup>1-2</sup> Desde o seu desenvolvimento em 1957, tem sido a base do tratamento do cancro colorretal.<sup>3</sup> As vias metabólicas do 5-FU têm sido extensivamente investigadas. Diversos estudos relataram a elevada variabilidade interindividual do metabolismo de 5-FU. As concentrações no sangue de 5-FU podem variar em cerca de 10 vezes apesar da administração de dose idêntica pela Área de superfície corporal (ASC).<sup>4-8</sup>

O 5-FU é normalmente administrado por infusão ou por via oral como pró-fármaco. No plasma, possui uma meia-vida de aproximadamente dez a quinze minutos e atinge concentrações de estado constante no espaço de duas horas com infusão contínua. Durante o tratamento convencional com 5-FU foram detetados efeitos secundários graves, incluindo toxicidade gastrointestinal, neurológica, hematológica e das mucosas.<sup>9</sup> Alguns estudos demonstraram que mais de 30% dos pacientes tratados apresentaram uma toxicidade limitadora da dose. Estudos recentes relataram também uma toxicidade grave (grau 3/4) e morte na sequência do tratamento com 5-FU. A investigação sugeriu que apenas 40% a 50% dos pacientes com toxicidade grave apresentaram deficiência da enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD) parcial ou profunda, demonstrando que existem outros fatores para além de uma falha de DPD genética que podem afetar os níveis de 5-FU.<sup>10-</sup>

15

Estudos clínicos relataram de forma consistente que a maioria dos pacientes não está no intervalo terapêutico alvo aquando da dosagem de ASC e, de facto, a maioria destes estão subadministrados.<sup>16-23</sup> Os dados clínicos também demonstram que o ajuste de dose orientado farmacocineticamente (PK) dos níveis de sangue de 5-FU pode resultar numa toxicidade diminuída, numa resposta global melhorada e numa sobrevivência acrescida.<sup>4-8,16,17,19,20,22,24-38</sup>

Em combinação com outras informações clínicas, a monitorização dos níveis de 5-FU oferece aos médicos uma ferramenta eficaz para ajudar na gestão de doses, de forma a obter um efeito terapêutico ideal, ao mesmo tempo que se evitam níveis medicamentosos tóxicos ou subterapêuticos.<sup>4-8,16,17,19,20,22,24-39</sup> Com a toxicidade reduzida, os pacientes podem manter um tratamento durante longos períodos de tempo. Hoje em dia, a avaliação PK de 5-FU em pacientes apenas pode ser efetuada por métodos analíticos físicos, como a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC)<sup>40-42</sup> ou a espetrometria de massa por cromatografia em fase líquida (LC-MS/MS).<sup>34,42</sup> Estas técnicas físicas são caras, demoradas, envolvem a preparação de amostras e a presença de técnicos a tempo inteiro, o que prejudica uma adoção transversal de uma abordagem de gestão de doses orientada por PK.

Em contraste, um imunoensaio homogéneo para determinação dos níveis de 5-FU proporciona resultados rápidos e de qualidade correlacionados com métodos físicos que utilizam analisadores clínicos de rotina, em comparação com outras determinações de monitorização de medicamentos terapêuticos utilizadas, de forma comum, nos últimos trinta anos. O teste My5-FU proporciona uma ferramenta conveniente, económica e rápida para ajudar os oncologistas na gestão de doses de 5-FU.

## Princípios do procedimento

O teste My5-FU (Patente dos EUA N.º 7,205,116) é um imunoensaio homogéneo de aglutinação de nanopartículas de dois reagentes utilizado na deteção de 5-FU em plasma humano. É baseado no princípio de avaliar as alterações na luz difusa ou absorvância que ocorrem quando as nanopartículas se agregam. Esta agregação é avaliada em comprimentos de onda entre 400 e 650 nm, utilizando química clínica automatizada ou analisadores de imunoensaio. A conjugação de medicamentos multivalentes serve como elo de ligação para uma selecção de anticorpos de 5-FU que estão ligados de forma covalente à superfície das nanopartículas. Na ausência de 5-FU livre, esta reacção cria amplos agregados, resultando numa solução que difunde a luz incidente e leva a um aumento da absorção observada da solução. Quando uma amostra contendo 5-FU é introduzida, a reacção de aglutinação é parcialmente inibida. O anticorpo ligado ao medicamento de amostra já não está disponível para promover a agregação de nanopartículas, resultando numa menor difusão da luz incidente e numa redução da absorção observada da solução. Desta forma, a curva de inibição clássica respeitante à concentração de 5-FU é obtida com a absorção máxima que ocorre com baixos níveis de medicamento e com a absorção mínima que ocorre com elevados níveis de medicamento. A monitorização destas alterações na luz difusa ou absorvância em função dos níveis de medicamento resulta numa curva dependente da concentração.<sup>43-44</sup>

## Reagentes

My5-FU Assay <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span> 5FU-RGT	Quantidade x Volume
Reagente 1 <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">R1</span> Contém indutores de aglutinação, proteína e tampão.	1 x 10.0 mL
Reagente 2 <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">R2</span> Contém anticorpo monoclonal ligado a nanopartículas numa solução tamponada	1 x 10.0 mL

## *Advertências e precauções*

Apenas para utilização em diagnóstico in vitro.

Tenha as precauções normais necessárias para o manuseamento de todos os reagentes laboratoriais.

Siga as instruções de manuseamento do reagente. A mistura imprópria de reagentes pode afetar o desempenho do teste..

Os materiais de origem humana foram testados em relação a VIH-1 e VIH-2, Hepatite B e Hepatite C através de métodos aprovados pela FDA e os resultados foram considerados negativos. No entanto, dado que nenhum método de teste pode eliminar o risco potencial de infecção com certeza absoluta, o material deve ser manuseado com o mesmo cuidado de uma amostra de um paciente. No caso de exposição, deverão ser seguidas as directivas das autoridades de saúde responsáveis.

Todos os componentes do Teste My5-FU contêm menos de 0,1% de azida de sódio. Para obter a listagem específica, consulte a secção do reagente neste folheto informativo. Evite o contacto com a pele e as membranas mucosas. Lave as áreas afectadas com água abundante. Procure assistência médica de imediato se os reagentes forem ingeridos ou entrarem em contacto com os olhos. Aquando da eliminação destes reagentes, lave sempre com água abundante para prevenir a acumulação de azida.

## *Instruções de manuseamento e armazenamento*

Armazene os reagentes, calibradores e controlos refrigerados a 2-8 °C. Não congele.

Misture os reagentes (R1 e R2) invertendo-os delicadamente vezes e evitando a formação de bolhas. Em seguida, coloque-os no analisador.

Misture os reagentes (R1 e R2) antes de os verter para qualquer transportador de reagente específico do analisador (secundário). Antes de colocar no analisador o transportador de reagente específico do analisador (secundário), misture os reagentes (R1 e R2) invertendo-os delicadamente cinco vezes e evitando a formação de bolhas.

## *Indicações de estabilidade*

Os reagentes permanecem estáveis até ao final do prazo de validade, quando armazenados e manuseados conforme indicado.

## **Recolha e manuseamento de amostras**

As amostras de plasma (EDTA ou heparina) podem ser utilizadas com o teste My5-FU. Retire a amostra na fase final da infusão, de preferência duas a quatro horas antes do fim, mas certifique-se de que a bomba ainda contém solução durante a recolha da amostra. Para infusões de 46 horas, retire a amostra pelo menos 18 horas após o início da infusão. O tempo de início da infusão contínua e o tempo real da amostragem devem ser registados.

Recolha, no mínimo, 2 ml de sangue para um tubo de heparina ou EDTA. Recolha a amostra de sangue através de venipunctura ou através de uma linha IV periférica. Desta forma, evita-se a contaminação através do medicamento de infusão. NÃO efectue a recolha da amostra de sangue através da linha IV de infusão.

## *Estabilizador de amostra*

Injecte o tubo de recolha com o estabilizador de amostra My5-FU imediatamente após efectuar a colheita e inverta cuidadosamente 3 vezes. Não coloque a amostra em gelo e não refrigere quando utilizar o estabilizador. Centrifugue a amostra no espaço de 24 horas após a colheita. Efectue a colheita de plasma a partir da parte superior do tubo, evitando a camada celular, e transfira para um tubo secundário com tampa. O plasma deve estar isento de células. Armazene a amostra de plasma a uma temperatura entre 2-8 °C ou à temperatura ambiente durante até uma semana ou congele ( $a \leq -20$  °C) para um armazenamento mais prolongado da amostra. As amostras podem ser expedidas à temperatura ambiente. Forneça ao laboratório os tempos de início e fim de infusão. Consulte o folheto informativo do estabilizador de amostra My5-FU para obter instruções completas sobre a utilização do estabilizador de amostra.

## *Sem estabilizador de amostra*

A utilização do estabilizador de amostra é vivamente recomendada. Se o estabilizador de amostra não for utilizado, as amostras devem ser centrifugadas no espaço de vinte minutos após a recolha para o isolamento do plasma. Alternativamente, coloque a amostra no gelo imediatamente após a recolha e centrifugue no espaço de uma hora após a recolha. Efectue a colheita de plasma a partir da parte superior do tubo, evitando a camada celular (a contaminação de plasma com células sanguíneas pode provocar a degradação de 5-FU) e transfira para um tubo secundário com tampa.

Armazene a amostra a uma temperatura entre 2-8 °C durante até uma semana ou congele ( $\leq -20$  °C) para um armazenamento mais prolongado da amostra. Se a amostra for enviada para um laboratório de teste externo, congele a amostra de plasma ( $\leq -20$  °C) durante, no mínimo, 16 horas antes da expedição para diminuir a degradação da amostra. As amostras poderão, então, ser expedidas para o laboratório à temperatura ambiente.

## Procedimento

### *Materiais fornecidos:*

**REF** 5FU-RGT – My5-FU Assay

### *Equipamento adicional necessário, mas não fornecido:*

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

**REF** 5FU-CON – My5-FU Control Kit

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

### *Instrumentos*

Poderá ser necessário transferir os reagentes para recipientes de reagente específicos do analisador.

O desempenho de aplicações não validadas pela Saladax Biomedical, Inc. não é garantido e tem de ser definido pelo utilizador.

### *Teste*

Para realizar o teste, consulte a folha de aplicação específica do instrumento e o manual do operador do analisador adequado.

### *Procedimento de diluição de amostras*

As amostras que contenham 5-FU em concentrações superiores a 1.800 ng/mL podem ter uma diluição de 1:5 para a obtenção de um intervalo superior de 9.000 ng/mL. Consulte o manual de funcionamento específico do instrumento para um protocolo de diluição automático (apenas por cuvete) das amostras 5-FU com água. Alternativamente, as amostras fora do intervalo podem ser manualmente diluídas a 1:10 ou 1:100, com água desionizada, ou a 1:5 no Calibrador 0 ng/ml e colocadas no bastidor de amostras para análise.

### *Calibragem*

O Teste My5-FU produz uma curva de calibragem com um intervalo de 0 a 1.800 ng/mL utilizando o Kit calibrador My5-FU. A concentração mínima detectável de 5-FU no plasma para o Teste My5-FU é de 52 ng/mL.

Valide a calibragem do teste testando os Controlos My5-FU.

### *Frequência de calibragem*

A calibragem é recomendada:

- Após uma alteração do lote do reagente kit,
- Após a realização da manutenção mensal do instrumento,
- Conforme indicado, segundo os procedimentos de controlo de qualidade.

### *Controlo de qualidade*

O Kit de controlo My5-FU contém três níveis de controlos com concentrações de 5-FU baixas, médias e elevadas.

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos e frequência de controlo. Segundo as boas práticas laboratoriais, devem ser testadas, pelo menos, duas concentrações de controlo de qualidade em cada dia que sejam testadas amostras de pacientes e de cada vez que seja efectuada a calibragem. Reavalie os objetivos e intervalos de controlo a seguir a uma alteração de lote de reagente (kit) ou controlo.

## Resultados e valores esperados

O software do instrumento calcula a equação de curva não linear mais adequada utilizada para gerar uma curva de calibragem que atinja uma concentração de 5-FU entre 0 e 1800 ng/mL. Esta curva é armazenada no analisador e as concentrações de medicamento nas amostras desconhecidas são calculadas através desta curva, utilizando os valores de absorvância gerados por cada amostra.

### Limitações do procedimento

Tal como com todas as determinações de analito, o Teste My5-FU deverá ser utilizado em conjunção com a informação disponível da avaliação clínica e outros procedimentos de diagnóstico.

As características de desempenho do Teste My5-FU não foram estabelecidas para fluidos corporais, para além de plasma humano que contenha EDTA ou heparina.

Não foram observadas interferências significativas de amostras com as seguintes condições:

Interferente	Nível	
Fator reumatoide	500 UI/mL	
Efeito de matriz de proteínas totais	12 g/dL	120 g/L
Interferência icterica	95 mg/dL	1624 µmol/L
Interferência lipémica	1700 mg/dL	19 mmol/L
Hemolisado	1000 mg/dL	

O 5-FU não é estável em sangue total. A hemólise deve ser evitada.

A teofilina, quando testada a 10 000 ng/mL, possui uma reactividade cruzada de 4,6% no Teste My5-FU. Podem ser observados níveis elevados de 5-FU em amostras de pacientes que tomam teofilina. A teobromina, quando testada a 20 000 ng/mL possui uma reactividade cruzada de 2,2%. Os níveis de 5-FU podem ser elevados em amostras de pacientes que tenham ingerido chocolate durante ou pouco antes da sua infusão.

À semelhança de qualquer teste que utiliza anticorpos de rato, existe a possibilidade de interferência por anticorpos antirrato humanos (HAMA) na amostra. As amostras que contenham este tipo de anticorpos podem potencialmente produzir resultados de 5-FU erróneos, inconsistentes com o perfil clínico do paciente. Caso suspeite desta ocorrência, contacte os Serviços Técnicos da Saladax para receber assistência.

### Valores esperados

Não foi estabelecida uma relação precisa entre os níveis de plasma 5-FU e a eficácia antineoplásica. Estudos clínicos recentes sobre o cancro colorretal usaram intervalos-alvo de 5-FU AUC de 20 a 24 ou até 30 mg·h/L.<sup>18-21,23,38</sup> Os níveis de AUC superiores a 25 mg·h/L foram associados a um risco aumentado de toxicidade na forma de diarreia, síndrome mão-pé, mucosite, estomatite e leucopenia.<sup>4,17,24-37</sup>

A utilização da área de plasma de 5-FU sob os cálculos da curva (AUC) em que AUC é determinado a partir da concentração de estado constante (Css) de 5-FU multiplicada pela duração do ciclo de infusão de 5-FU tem-se revelado útil na determinação de doses individuais ideais de 5-FU. O AUC pode ser calculado multiplicando o Css pelo tempo (horas) de infusão:

$$\text{Css} \times \text{Tempo de infusão} = \text{AUC}$$

As concentrações de 5-FU de um medicamento não devem ser o único meio de gestão medicamentosa terapêutica. O teste deve ser utilizado em conjunção com a informação disponível das avaliações clínicas e outros procedimentos de diagnóstico. A condição médica actual e passada do paciente, a complexidade do estado clínico, as diferenças individuais na sensibilidade de 5-FU e os efeitos tóxicos de 5-FU, a co-administração de outros medicamentos e numerosos outros factores podem resultar em diferentes concentrações de sangue ideais de 5-FU para qualquer indivíduo. Cada paciente deve ser submetido a uma abrangente avaliação clínica antes da modificação do plano de tratamento e os clínicos devem monitorizar cuidadosamente os pacientes durante o início da terapia e ajustes de dose. Tendo em conta a heterogeneidade do estado clínico do paciente, os médicos devem estabelecer um intervalo de gestão terapêutica desejado com base na sua própria experiência e nos requisitos clínicos do paciente. As concentrações de 5-FU para pacientes individuais devem ser

determinadas utilizando um método único e consistente, de forma a minimizar os efeitos contraditórios associados à reactividade cruzada e ao reconhecimento de metabolitos.

### Características de desempenho específicas

Os dados de desempenho típicos do Teste My5-FU obtidos num Beckman (anteriormente Olympus) AU400 são apresentados abaixo. Os resultados obtidos em laboratórios específicos podem diferir destes dados.

#### Precisão

A precisão foi determinada conforme indicado na Diretriz EP5-A2 do CLSI.

Os controlos baixo, médio e elevado de 5-FU e 4 conjuntos de amostras de pacientes contendo níveis de 5-FU variáveis foram testados em duplicado duas vezes por dia, durante vinte dias, em dois locais e utilizando 2 lotes de teste. As médias foram determinadas e foram calculadas a % de CV e de SD total, intra-ensaio.

De seguida, são apresentados resultados representativos de um lote de teste num local.

Tipo de amostra	Valor atribuído (ng/mL)	N	Média (ng/mL)	Intra-ensaio		Total	
				DP	%CV	DP	%CV
Controlos	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 humano	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 de quantificação inferior (LoQ)

É definido como a concentração de medicamento mais baixa que pode ser medida com uma precisão e exactidão aceitáveis. É considerada a concentração de medicamento medida em que o coeficiente de variação de teste não é superior a 15% e em que a recuperação é de 90 a 110%. Para determinar o LoQ, 3 amostras de plasma negativas foram enriquecidas com uma quantidade conhecida de 5-FU e a quantidade de medicamento foi quantificada pelo teste utilizando dois lotes de reagentes em cinco ensaios (n = 5/ensaio). O LoQ foi determinado como 85 ng/mL.

#### Limite de deteção (LoD)

É definido como a concentração do medicamento mais baixa que pode ser detetada com 95% de confiança. Para determinar o LoD, 3 amostras de plasma negativas foram enriquecidas com uma quantidade conhecida de 5-FU e a quantidade de medicamento foi quantificada pelo teste utilizando dois lotes de reagentes em cinco ensaios (n = 5/ensaio). O LoD foi determinado como 52 ng/mL.

#### Especificidade

##### Metabolitos de 5-FU e compostos relacionados estruturalmente

Excepto indicação em contrário, 10 000 ng/mL de cada um dos seguintes metabolitos de 5-FU ou de compostos relacionados estruturalmente foram adicionados a plasma livre de 5-FU e testados utilizando o Teste My5-FU. A % de reação cruzada no teste para cada composto é apresentada abaixo.

Composto	% de reação cruzada
Dihidro-5-fluorouracil	<0,1
Dihidrouracilo*	0,4
Eniluracilo	0,9
Uracilo	11,1
Timidina	<0,1

Composto	% de reação cruzada
5-Fluorouridina	<0,1
Uridina	<0,1
Pseudouridina*	<0,01
Tegafur	<0,1
Capecitabina*	<0,01
5'-deoxi-5-fluorouridina	<0,1
5'-deoxi-5-fluorocitidina	<0,1

\*100 000 ng/mL de concentração testada

#### Medicamentos comuns administrados em concomitância

Excepto indicação em contrário, 100 000 ng/mL de cada composto foram marcados em plasma livre de 5-FU ou plasma marcado com 1000 ng/mL de 5-FU. Com a excepção da teofilina, com 4,6% de reactividade cruzada no teste e da teobromina, com 2,2% de reactividade cruzada, foi efectuada uma reactividade cruzada de todos os compostos de  $\leq 1\%$  no teste.

Acetaminofeno	Irinotecano*	Prednisona
N-Acetilprocainamida	Canamicina A	Procainamida
Alopurinol	Canamicina B	Proclorperazina
Amicacina	Leucovorina*	Sulfato de quinidina
Ampicilina	Lidocaína	Rifampicina
Azatioprina	Metotrexato	Ácido salicílico
Cafeína	Metilprednisolona	Espectinomicina
Carbamazepina	Sulfato de morfina*	Sulfato de estreptomicina
Ceftriaxona	Oxaliplatina*	Teobromina**
Cefalosporina	Paraxantina**	Teofilina*
Eritromicina	Penicilina G	Tobramicina
Gemcitabina	Fenobarbital	Ácido valpróico
Gentamicina	Fenitoína	Vancomicina
Hidrocortisol	Prednisolona	Xantina

\*10 000 ng/mL de concentração testada

\*\*20 000 ng/mL de concentração testada

#### **Recuperação**

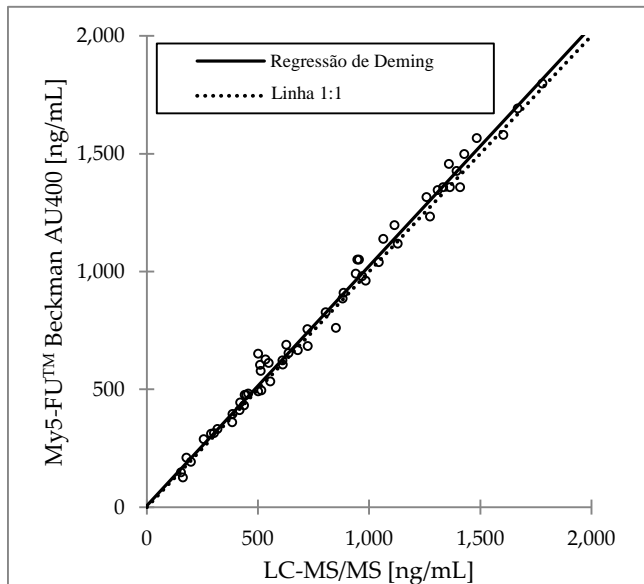
Para avaliar a recuperação, o 5-FU foi marcado em amostras de plasma livre de 5-FU normais e em amostras de pacientes com uma concentração conhecida de 5-FU. A percentagem de recuperação foi determinada dividindo a concentração observada de cada amostra pela concentração esperada de 5-FU adicionado mais o 5-FU original presente na amostra. A percentagem de recuperação foi de 96% a 108%.

#### **Linearidade por diluição da amostra**

Para avaliar a linearidade do teste, 11 amostras com concentrações de 5-FU abrangendo o intervalo do teste foram preparadas utilizando o esquema de diluição da Diretriz EP6-A vol. 23 N.º 16 aprovada pelo CLSI e foram testadas (n = 10) com 2 lotes de teste. A linearidade de diluições específicas foi considerada aceitável se o desvio percentual se encontrar dentro de  $\pm 10\%$  do valor esperado para concentrações  $\geq 150$  ng/mL ou  $\pm 15\%$  para concentrações  $< 150$  ng/mL. O teste foi considerado linear durante o intervalo reportável do teste.

## Comparação de método

Foi efectuada uma comparação entre o Teste Saladax My5-FU e LC-MS/MS utilizando 57 amostras de plasma humano obtido de pacientes que receberam a terapêutica de 5-FU. O intervalo de concentração de 5-FU pelo Teste My5-FU foi de 122-1801 ng/mL com uma média de 816 ng/mL. O intervalo de concentração de 5-FU para o método de referência LC-MS/MS validado foi de 141-1810 ng/mL com uma média de 796 ng/mL. Os resultados da análise da regressão de Deming encontram-se abaixo.



Inclinação = 1,017  
Interceção-y = 6,78  
Coeficiente de correlação (R) = 0,9925

## Referências no folheto informativo:

1. Teva Parenteral Medicines, Inc. Aduracil. Informação de prescrição completa. 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, Forrest A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil during 72 hour continuous infusion with and without dipyridamole. *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. 3Results 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-Szkatnicka 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-Szkatnicka 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; 896-905.