

My5-FU






5-Fluorouracil (My5-FU™) Assay

Kundtjänst:

 Telefon: +1 (610) 419-6731
 Fax: +1 (484) 547-0590

 E-post: Techsupport@saladax.com
 MyCareTests.com

Förklaring av använda symboler

IVD	<i>in vitro</i> -diagnostisk produkt		Se bruksanvisningen
REF	Katalognummer		Använd före
LOT	Batchkod		Temperaturbegränsning
	Tillverkare	 (N) x	Vänd försiktigt på reagenserna (R1 och R2) N gånger före användning
R1	Reagens 1	R2	Reagens 2
CH REP	Auktoriserad representant i Schweiz		
EC REP	Auktoriserad EU-representant		


 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

Avsedd användning

Saladax 5-fluorouracil (My5-FU) Assay är en *in vitro*-diagnostisk medicinteknisk produkt avsedd för kvantitativ bestämning av 5-FU i humanplasma med hjälp av automatiserade klinisk-kemiska analysinstrument som stöd vid behandling med 5-FU.

Sammanfattning och beskrivning av testet

5-FU (Adrucil, bland annat) är ett kemoterapeutiskt medel som används vid behandling av flera solida tumörsjukdomar, särskilt kolorektal-, mag-, bröst-, pankreas- samt huvud- och halscancer.¹⁻² Sedan dess utveckling 1957 har det varit hörnstenen i behandlingen av kolorektal cancer.³ De metabola vägarna för 5-FU har undersökts ingående. Flera studier har rapporterat hög interindividuell variabilitet i 5-FU-metabolism. Blodkoncentrationer av 5-FU kan variera mer än tiofaldigt trots lika dosadministrering enligt kroppsytan (Body Surface Area, BSA).⁴⁻⁸

5-FU administreras rutinmässigt genom infusion eller oralt som ett förläkemedel (prodrug). I plasma har det en halveringstid på ca tio till femton minuter och stabil koncentration uppnås inom ca två timmar vid kontinuerlig infusion. Allvarliga biverkningar, inklusive gastrointestinala, neurologiska, hematologiska och mukosal toxicitet, har förekommit vid konventionell behandling med 5-FU.⁹ Studier har visat att över 30 % av de behandlade patienterna uppvisar dosbegränsande toxicitet. Studier som utförts nyligen rapporterade även allvarlig toxicitet (grad 3/4) och dödsfall vid behandling med 5-FU. Forskning har visat att endast 40–50 % av patienterna som drabbas

av allvarlig toxicitet uppvisar partiell eller uttalad brist på dihydropyrimidindehydrogenasenzym (DPD), vilket visar att det finns andra faktorer förutom en genetisk DPD-defekt som kan påverka nivåerna av 5-FU.¹⁰⁻¹⁵

Kliniska studier har konsekvent rapporterat att majoriteten av patienterna inte ligger inom det terapeutiska målintervallet när doseringen baseras på BSA och faktiskt är de flesta av dessa underdoserade.¹⁶⁻²³ Kliniska data visar också att farmakokinetiskt (PK) styrd dosjustering av blodnivåer av 5-FU kan resultera i minskad toxicitet, förbättrat totalt svar och ökad överlevnad.^{4-8,16,17,19,20,22,24-38}

I kombination med annan klinisk information ger övervakning av 5-FU-nivåer läkare ett effektivt verktyg för att underlätta doshanteringen i syfte att uppnå optimal behandlingseffekt samtidigt som man undviker subterapeutiska eller toxiska läkemedelsnivåer.^{4-8,16,17,19,20,22,24-39} Med minskad toxicitet kan patienter fortsätta behandlingen under längre perioder. I dag kan PK-bedömning av 5-FU hos patienter endast utföras med fysikaliska analytiska metoder såsom högpresterande vätskekromatografi (HPLC)⁴⁰⁻⁴² eller vätskekromatografi-tandem masspektrometri (LC-MS/MS).^{34,42} Dessa fysikaliska tekniker är tidskrävande, kostsamma, innebär provberedning och kräver heltidsanställda tekniker, vilket allt sammantaget hindrar ett brett införande av ett PK-styrt doseringshanteringsförfarande.

I motsats till detta ger en homogen immunanalys för bestämning av 5-FU-nivåer snabba resultat av hög kvalitet som är jämförbara med andra terapeutiska läkemedelsövervakningsbestämningar som använts rutinmässigt i mer än trettio år. My5-FU-analysen erbjuder ett praktiskt, kostnadseffektivt och tidsbesparande verktyg för att hjälpa onkologer vid doseringen av 5-FU.

Princip

My5-FU Assay (amerikanskt patent nr 7,205,116) är en homogen agglutinationsimmunanalys av nanopartiklar med två reagens, som används för detektion av 5-FU i humanplasma. Den baseras på principen att mäta förändringar av spritt ljus eller absorbans när nanopartiklar aggregerar. Denna agglutination mäts vid våglängder mellan 400 och 650 nm med hjälp av automatiserad klinisk kemi eller immunoanalysverktyg. Flervärdiga läkemedelskonjugat tjänar som en bindningspartner till antikroppar, vilka är selektiva för 5-FU, som är kovalent bundna till ytan på nanopartiklar. I frånvaro av fritt 5-FU skapar denna reaktion stora aggregat, vilket resulterar i en lösning som sprider infallande ljus och leder till en ökning av lösningens observerade absorption. När ett prov innehållande 5-FU introduceras hämmas agglutinationsreaktion delvis. Antikropp som är bunden till provläkemedel är inte längre tillgängligt för att främja nanopartikelaggregation, vilket resulterar i mindre spridning av infallande ljus och lägre observerad absorption av lösningen. Sålunda erhålls en klassisk inhibitionskurva med hänsyn till 5-FU-koncentration, där den högsta absorptionen sker vid låga nivåer av läkemedel och den lägsta absorptionen sker vid höga nivåer av läkemedel. Övervakning av förändringarna i spritt ljus eller absorbans som en funktion av läkemedelsnivåer resulterar i en koncentrationsberoende kurva.⁴³⁻⁴⁴

Reagenser

My5-FU Assay REF 5FU-RGT	Kvantitet x volym
Reagens 1 R1 Reaktionsbuffert som innehåller läkemedelskonjugat, protein och buffert	1 x 10,0 ml
Reagens 2 R2 Nanopartikelreagens som innehåller monoklonal antikropp bunden till nanopartiklar i en buffrad lösning	1 x 10,0 ml

Försiktighetsåtgärder och varningar

Endast för in vitro-diagnostik.

Vidtag de normala försiktighetsåtgärder som krävs vid hantering av alla laboratoriereagenser.

Följ reagensens hanteringsanvisningar. Felaktig blandning av reagenser kan påverka analysens prestanda.

Material av humant ursprung har testats för HIV-1 och HIV-2, hepatit B och hepatit C med FDA-godkända metoder och fynden var negativa. Eftersom ingen testmetod med absolut säkerhet kan utesluta den potentiella risken för infektion, måste emellertid materialet hanteras precis lika försiktigt som ett patientprov. Vid fall av exponering skall direktiven från ansvariga hälsovårdsmyndigheter följas.

Samtliga komponenter i My5-FU Assay innehåller mindre än 0,1 % natriumazid. För en specifik lista, se avsnittet om reagenser i detta produktblad. Undvik kontakt med hud och slemhinnor. Spola påverkade områden med rikliga mängder vatten. Sök omedelbart läkarvård om reagensen förtärts eller kommit i kontakt med ögonen. Spola alltid med rikliga mängder vatten vid kassering av sådana reagenser, för att förhindra ansamling av azider.

Hantering och förvaring

Förvara reagenser, kalibratorer och kontroller i kylskåp vid 2–8 °C. Får ej frysas.

Blanda reagenserna (R1 och R2) genom att vända dem upp och ned försiktigt fem gånger. Undvik att det bildas bubblor. Placera dem därefter i analysinstrumentet.

Blanda reagenserna (R1 och R2) innan du håller dem i en analysinstrumentspecifik (sekundär) reagensbehållare. Innan du placerar analysinstrumentspecifika (sekundära) reagensbärare på analysinstrumentet, blanda reagenserna (R1 och R2) genom att försiktigt vända på dem fem gånger och undvik att det bildas bubblor.

Stabilitetsindikationer

Reagenserna är stabila fram till utgångsdatumet, om de förvaras och hanteras enligt anvisningarna.

Provinsamling och hantering

Plasmaprov (EDTA eller heparin) kan användas till My5-FU Assay. Tag provet mot slutet av infusionen, helst två till fyra timmar innan infusionen avslutas, men säkerställ att pumpen fortfarande innehåller lösning när provet tas. För 46-timmarsinfusioner ska provet tas minst 18¹⁸ timmar efter infusionens start. Starttiden för den kontinuerliga infusionen samt tidpunkten för provtagningen bör protokollföras.

Samla in minst 2 ml blod i ett EDTA-rör eller ett heparinrör. Ta provet genom venpunktion eller via en perifer IV-slang. På så vis undviks kontamination från läkemedelsinfusionen. Blodprovet FÅR EJ tas från infusionsslangen.

Provstabilisator

Injicera My5-FU sample stabilizer i provröret omedelbart efter att provet tagits och vänd röret varsamt tre gånger. Provet ska inte läggas på is eller kylas när stabilisatorn används. Centrifugera provet inom 24 timmar efter att det tagits. Tag av plasma från övre delen av röret, undvik cellagret och överför till ett annat rör med kork. Plasman får inte innehålla celler. Förvara plasmaprovet vid 2–8 °C eller i rumstemperatur i upp till en vecka eller frys det (vid ≤ -20 °C) vid längre förvaring. Prov kan transporteras i rumstemperatur. Förse laboratoriet med uppgifter om när infusionen startade och slutade. Se produktbladet om My5-FU sample stabilizer för fullständiga instruktioner om hur provstabilisatorn ska användas.

Utan provstabilisator

Användning av provstabilisator rekommenderas starkt. Om provstabilisatorn inte används bör provet centrifugeras inom tjuo minuter från provtagningstillfället för att skilja av plasman. Alternativt kan proven placeras på is omedelbart efter insamlingen och centrifugeras inom en timme efter insamlingen. Avlägsna plasman från provrörets övre del (undvik cellagret eftersom blodceller i plasman kan orsaka försämring av 5-FU) och överför den till ett annat rör med kork. Förvara provet vid 2–8 °C i upp till en vecka eller frys det (≤ -20 °C) vid längre förvaring. Om provet ska skickas till ett externt testlaboratorium måste plasmaprovet frysas (≤ -20 °C) minst 16 timmar före transporten för att minska provnedbrytning. Prover kan därefter transporteras till laboratoriet i rumstemperatur.

Metod

Material som tillhandahålls:

REF 5FU-RGT – My5-FU Assay

Ytterligare material som behövs, men som inte ingår:

REF 5FU-CAL – My5-FU Calibrator Kit

REF 5FU-CON – My5-FU Control Kit

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

Instrument

Reagenser kan behöva överföras till reagensbehållare som är specifika för analysinstrumentet.

Prestanda för applikationer som inte validerats av Saladax Biomedical, Inc. garanteras inte och måste definieras av användaren.

Analys

För att köra analysen ska du läsa det instrumentspecifika bladet och vidkommande användarhandbok till analysinstrumentet.

Spädning av prov

Prov som innehåller 5-FU i högre koncentrationer än 1 800 ng/ml kan spädas 1:5 för att ge en övre gräns på 9 000 ng/ml. I den instrumentspecifika bruksanvisningen finns ett automatiskt spädningsprotokoll för spädning av 5-FU-prov med vatten (endast med kyvett). Alternativt kan prov utanför intervallet spädas manuellt 1:10 eller 1:100 med avjoniserat vatten eller 1:5 i 0 ng/ml-kalibrator och placeras i provstället för analys.

Kalibrering

My5-FU Assay ger en kalibreringskurva med ett intervall på 0 till 1 800 ng/ml då My5-FU Calibrator Kit används. Den minsta detekterbara koncentrationen av 5-FU i plasma för My5-FU-analysen är 52 ng/ml.

Validera analyskalibreringen genom att testa My5-FU Controls.

Kalibreringsfrekvens

Kalibrering rekommenderas:

- efter byte av ett parti reagenskit,
- efter månatligt instrumentunderhåll
- i enlighet med gängse kvalitetskontrollprocesser.

Kvalitetskontroll

My5-FU Control Kit innehåller tre kontrollnivåer med låga, medelhöga och höga koncentrationer av 5-FU.

Varje laboratorium bör fastställa sina egna kontrollintervall och sin egen kontrollfrekvens. God laboratoriepraxis rekommenderar att minst två koncentrationer av kvalitetskontroll testas varje dag patientprov analyseras och varje gång kalibrering utförs. Omvärdera kontrollmålen och intervallen efter byte av reagenskit eller kontrollparti.

Resultat och förväntade värden

Instrumentets programvara beräknar en bästa icke-linjär kurvekvation som används för att generera en kalibreringskurva från 0 till 1 800 ng/ml av 5-FU-koncentration. Denna kurva lagras i analysutrustningen och koncentrationerna av läkemedel i de okända proven beräknas utifrån denna kurva, med hjälp av absorptionsvärden som genererats för varje prov.

Metodbegränsningar

Som med alla analytbestämningar, bör My5-FU Assay användas tillsammans med information från klinisk utvärdering och andra diagnostiska metoder.

Resultategenskaper för My5-FU Assay har inte fastställts för andra kroppsvätskor än humanplasma innehållande EDTA eller heparin.

Ingen signifikant interferens har observerats i prov under följande förhållanden:

Interferens	Nivå	
Reumatoid faktor	500 IU/ml	
Total proteinmatriseffekt	12 g/dl	120 g/l
Ikterisk interferens	95 mg/dl	1 624 µmol/l
Lipemisk interferens	1 700 mg/dl	19 mmol/l
Hemolysat	1 000 mg/dl	

5-FU är inte stabilt i helblod. Hemolys bör undvikas.

Teofyllin uppvisar en korsreaktivitet på 4,6 % i My5-FU Assay vid testning vid 10 000 ng/ml. Förhöjda 5-FU-värden kan uppträda i prover från patienter som tar teofyllin. Teobromin uppvisar en korsreaktivitet på 2,2 % vid testning vid 20 000 ng/ml. 5-FU-nivåer kan vara förhöjda i prover från patienter som har ätit choklad under eller strax före sin infusion.

Som för alla analyser som använder musantikroppar finns risk för interferens med humana anti-musantikroppar (HAMA) i provet. Prov innehållande sådana antikroppar kan potentiellt ge felaktiga 5-FU-resultat som inte överensstämmer med patientens kliniska profil. Om du misstänker att detta skett skall du kontakta Saladax tekniska service för hjälp.

Förväntade värden

Inget exakt förhållande mellan 5-FU-plasmanivåer och antineoplastisk effekt har fastställts. Nyligen genomförda kliniska studier vid kolorektal cancer har använt målintervall för 5-FU-AUC från 20 till 24 eller till 30 mg·h/l.^{18-21,23,38} AUC-nivåer över 25 mg·h/l har associerats med ökad risk för toxicitet i form av diarré, hand-fot-syndrom, mukositis, stomatit och leukopeni.^{4,17,24-37}

Att använda ett 5-FU-plasmaområde vid kurvberäkningarna (AUC), i vilka AUC bestäms från koncentrationen av 5-FU i jämviktstillstånd (C_{ss}) multiplicerat med varaktigheten av 5-FU-infusioncykeln, har visat sig vara användbart för bestämning av optimala individuella doser av 5-FU. AUC kan beräknas genom att multiplicera C_{ss} med infusionstiden (i timmar):

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

Bestämning av 5-FU-läkemedelskoncentrationer bör inte vara den enda metoden för terapeutisk läkemedelsövervakning. Analysen bör användas tillsammans med information från kliniska utvärderingar och andra diagnostiska procedurer. Patientens nuvarande och tidigare medicinska tillstånd, det kliniska tillståndets komplexitet, individuella skillnader i känslighet för 5-FU och toxiska effekter av 5-FU, samadministrering av andra läkemedel samt flera andra faktorer kan resultera i olika optimala blodkoncentrationer av 5-FU för olika patienter. Varje patient bör genomgå en omfattande klinisk bedömning innan behandlingsplanen modifieras, och varje patient bör noggrant övervakas vid terapistart och dosjusteringar. Med hänsyn till patientens heterogena kliniska tillstånd bör läkare fastställa ett önskat terapeutiskt övervakningsintervall, baserat på egen erfarenhet och varje enskild patients behov. 5-FU-koncentrationer för individuella patienter bör fastställas med hjälp av en enda konsekvent metod, för att minimera förvirrande effekter kopplade till korsreaktioner och igenkänning av metaboliter.

Särskilda resultategenskaper

Nedan visas typiska resultatdata för My5-FU Assay från en Beckman (tidigare Olympus) AU400. Resultaten som erhålls från andra laboratorier kan skilja sig från dessa data.

Precision

Precisionen bestämdes enligt beskrivningen i CLSI Guideline EP5-A2.

Låga, medelhöga och höga 5-FU-kontroller och fyra patientprovpooler innehållande varierande 5-FU-nivåer analyserades dubbelt två gånger om dagen i tjugo dagar vid två olika laboratorier, med användning av två analyspartier. Medelvärdena bestämdes och total SA och % CV beräknades inom körningen.

Följande är representativa resultat av ett analysparti vid ett laboratorium.

Provtyp	Känt värde (ng/ml)	N	Medelvärde (ng/ml)	Inom körning		Totalt	
				SA	%CV	SA	%CV
Kontroller	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
	1 300	80	1 341	18,6	1,4	27,0	2,0

Lägsta kvantifieringsgräns (LoQ)

Detta definieras som den lägsta läkemedelskoncentrationen som kan uppmätas med godtagbar precision. Den anses vara den uppmätta läkemedelskoncentrationen vid vilken variationskoefficienten inom analysen inte är större än 15 % och tillfrisknandet är 90–110 %. För att fastställa LoQ spikades tre negativa plasmaprover med en känd mängd 5-FU och mängden läkemedel kvantifierades med analysen med hjälp av två reagenspartier över fem körningar (n=5/körning). LoQ fastställdes vara 85 ng/ml.

Detektionsgräns (LoD)

Detta definieras som den lägsta läkemedelskoncentration som kan detekteras med 95 % precision. För att fastställa LoD spikades tre negativa plasmaprover med en känd mängd 5-FU och mängden läkemedel kvantifierades med analysen med hjälp av två reagenspartier över fem körningar (n=5/körning). LoD fastställdes vara 52 ng/ml.

Specificitet

5-FU-metaboliter och strukturellt relaterade föreningar

Om inte annat anges, tillsattes 10 000 ng/ml av var och en av följande 5-FU-metaboliter eller strukturellt relaterade föreningar i 5-FU-fri plasma och analyserades med hjälp av My5-FU Assay. Procentandelen korsreaktivitet i analysen för varje förening anges nedan.

Förening	Procent korsreaktivitet
Dihydro-5-fluorouracil	<0,1
Dihydrouracil*	0,4
Eniluracil	0,9
Uracil	11,1
Tymidin	<0,1
5-fluorouridin	<0,1
Uridin	<0,1
Pseudouridin*	<0,01
Tegafur	<0,1
Capecitabin*	<0,01
5'-deoxi-5-fluorouridin	<0,1
5'-deoxi-5-fluorocytidin	<0,1

*100 000 ng/ml koncentration testad

Vanliga samadministrerade läkemedel

Om inte annat anges berikades 100 000 ng/ml av varje förening i 5-FU-fri plasma eller plasma berikad med 1 000 ng/ml 5-FU. Med undantag för teofyllin med 4,6 % korsreaktivitet i analysen och teobrominet, med 2,2 % korsreaktivitet, korsreagerade alla föreningar ≤ 1 i analysen.

Acetaminofen	Irinotekan*	Prednison
N-acetylprokainamid	Kanamycin A	Prokainamid
Allopurinol	Kanamycin B	Proklorperazin
Amikacin	Leucovorin*	Kinidinsulfat
Ampicillin	Lidokain	Rifampicin
Azatioprin	Metotrexat	Salicylsyra
Koffein	Metylprednisolon	Spektinomycin
Karbamazepin	Morfinsulfat*	Streptomycinsulfat
Ceftriaxon	Oxaliplatin*	Teobromin**
Cefalosporin	Paraxantin**	Teofyllin*
Erytromycin	Penicillin G	Tobramycin
Gemcitabin	Fenobarbital	Valproinsyra
Gentamycin	Fenytoin	Vankomycin
Hydrokortisol	Prednisolon	Xantin

*10 000 ng/ml koncentration testad

**20 000 ng/ml koncentration testad

Återvinning

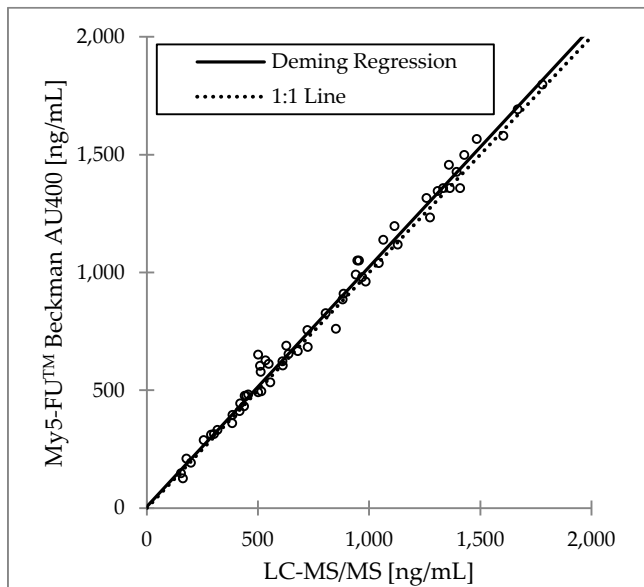
För att bedöma återvinning berikades normala 5-FU-fria plasmavprov och patientprov innehållande en känd koncentration av 5-FU med 5-FU. Procentandelen återvinning bestämdes genom att dividera den observerade koncentrationen i varje prov med den förväntade koncentrationen av tillsatt 5-FU plus ursprunglig 5-FU i provet. Utbytesprocenten sträckte sig från 96 till 108 %.

Linjäritet enligt provspädning

För att bedöma analyslinjäritet preparerades elva prov med 5-FU-koncentrationer, som täckte analysens intervall, med hjälp av spädningsschemat i CLSI Approved Guideline EP6-A vol. 23 No. 16 och analyserades (n=10) med två analyspartier. Linjäriteten vid specifika spädningar ansågs godtagbar om avvikelseprocenten låg inom $\pm 10\%$ av förväntat värde för koncentrationer ≥ 150 ng/ml eller $\pm 15\%$ för koncentrationer < 150 ng/ml. Analysen befanns vara linjär över analysens rapporterbara intervall.

Metodjämförelse

En jämförelse mellan Saladax My5-FU Assay och LC-MS/MS utfördes med hjälp av 57 prov humanplasma, som tagits från patienter som fått 5-FU-behandling. Spridningen av 5-FU-koncentration med My5-FU Assay var 122–1 801 ng/ml med ett medelvärde på 816 ng/ml. Spridningen av 5-FU-koncentration med den validerade LC-MS/MS-referensmetoden var 141–1 810 ng/ml med ett medelvärde på 796 ng/ml. Resultaten av Demings regressionsanalys visas nedan.



Lutning = 1,017
y-intercept = 6,78
Korrelationskoefficient (R) = 0,9925

Referenser i produktbladet:

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, 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, Asevoaia A, Boisdrón-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, Boisdrón-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, Boisdrón-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. 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, Boisdrón-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.