



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102015018919-2 A2

(22) Data do Depósito: 06/08/2015

(43) Data da Publicação: 07/02/2017



* B R 1 0 2 0 1 5 0 1 8 9 1 9 A

(54) Título: KIT E MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS

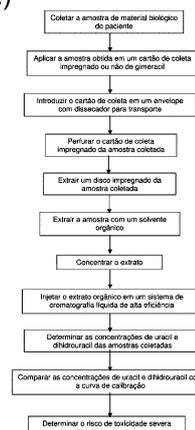
(51) Int. Cl.: G01N 33/50; G01N 30/02; C07D 213/69

(73) Titular(es): GILBERTO SCHWARTSMANN, RAFAEL LINDEN, MARINA VENZON ANTUNES, ANDRÉS FERNANDO ANDRADE GALARZA

(72) Inventor(es): GILBERTO SCHWARTSMANN; RAFAEL LINDEN; MARINA VENZON ANTUNES; ANDRÉS FERNANDO ANDRADE GALARZA

(74) Procurador(es): MILTON LUCÍDIO LEÃO BARCELLOS

(57) Resumo: RESUMO KIT E MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS A presente invenção pertence ao setor tecnológico da quimioterapia do câncer e da farmacologia bioquímica e refere-se, mais especificamente, a um teste diagnóstico para determinar a potencial intolerância de um dado paciente a fármacos quimioterápicos da classe das fluorpirimidinas. Composto o invento, há o desenvolvimento de um kit para utilização no teste de deficiência da enzima DPD, assim como uma forma de coleta, armazenamento e transporte da amostra do material biológico seco em papel. O kit proposto permite a análise da toxicidade de pacientes realizando tanto análises da saliva. É estipulada uma classificação do risco individual de que o paciente apresente toxicidade de graus III, IV e V no tratamento quimioterápico com fluorpirimidinas. As vantagens do invento consistem na coleta de apenas uma amostra biológica para determinação das concentrações de uracil (U) e dihidrouracil (UH₂), assim como a estabilização das concentrações dessas substâncias secas em papel através da adição de gimeracil, que permite o t(...)



KIT E MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS

Setor tecnológico da invenção

[01] De uma maneira geral a presente invenção pertence ao setor tecnológico da farmacologia bioquímica e se refere, mais especificamente, a um kit e método para teste de deficiência da enzima DPD para pacientes em tratamento com fluorpirimidinas, resultando na estimativa do risco de toxicidade severa causada por fármacos quimioterápicos.

Estado da técnica conhecido

[02] O câncer é uma doença crônica de alta incidência e está relacionada entre as cinco principais causas de morte no mundo. Considerando-se somente as doenças crônicas, o câncer é a segunda maior causa de morte, somente apresentando índices inferiores às doenças cardiovasculares. As neoplasias colorretal, de cabeça e pescoço, de estômago e de mama são as mais frequentes e apresentam indicação terapêutica neoadjuvante, adjuvante ou paliativa com o antineoplásico 5-fluorouracil (5-FU). O 5-FU foi introduzido nas práticas terapêuticas em 1957 e continua a ser parte essencial do tratamento de uma variedade de tumores.

[03] O 5-FU apresenta um tempo de meia vida curto, entre 10 a 20 minutos. Sua depuração total do corpo varia conforme a sua administração, sendo que a enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD) é a principal responsável pela degradação do 5-FU, sendo esta expressa principalmente no fígado. Entretanto, é sabido que diversos pacientes possuem mutações genéticas que levam a não expressão desta enzima, o que pode provocar efeitos adversos graves devido ao acúmulo do fármaco. Após ocorrer a penetração na célula, o 5-FU é metabolizado através de duas vias que concorrem entre si: a via anabólica, que dá origem aos metabólitos ativos, e a via catabólica, que inativa o 5-FU e conduz a eliminação do fármaco.

[04] Cerca de 10 a 25% dos pacientes tratados com 5-FU apresentam toxicidades graves, incluindo ainda um índice de 0,5 a 3% de mortes tóxicas, dependendo da dose e do regime infusional recebido. Recentemente, foi demonstrado que 70% das toxicidades graves e 80% das mortes tóxicas podem estar relacionadas com a deficiência da enzima DPD e, portanto, poderiam ser prevenidas com a avaliação prévia da atividade desta enzima. Desta forma, a administração de uma dose padrão de 5-FU para uma população de pacientes produz amplo gama de respostas devido à grande variabilidade metabólica individual. A partir disso, constata-se que a análise da atividade da enzima DPD pode ser um determinante importante para prever a eficácia e toxicidade do 5-FU. Ainda tal informação pode ser útil para individualizar a administração de 5-FU antes da primeira dose, uma vez que esta enzima geneticamente polimórfica controla aproximadamente 80% da eliminação de 5-FU.

[05] A deficiência da DPD pode ser total ou parcial, o que pode resultar em falha terapêutica e efeitos adversos graves, incluindo a morte, devido ao acúmulo do fármaco no organismo. Estas reações adversas devido ao tratamento por quimioterapia interferem drasticamente na saúde do paciente e estima-se aumentar significativamente os custos hospitalares e com outros medicamentos.

[06] Portanto, diversas alternativas já foram avaliadas para prever a atividade da enzima DPD antes do início de tratamentos com fármacos da classe das fluoropirimidinas. Dentre esses testes, pode-se citar os testes de genotipagem de DYPD, gene codificante da enzima DPD, porém estas opções se mostraram especialmente pouco eficazes para identificar os pacientes com atividade enzimática reduzida. Quando empregados testes de genotipagem, verifica-se que apenas 20% dos casos avaliados são identificados, pois podem ocorrer modificações pós-translacionais das proteínas. Ou seja, podem haver modificações químicas de uma cadeia proteica depois de sua translação.

[07] Outras estratégias também já foram propostas, como a determinação de concentrações endógenas plasmática de uracil (U) e seu produto catabólico, formado também pela enzima DPD, dihidrouracil (UH₂), bem como a

determinação destes mesmos compostos após uma dose de sobrecarga oral de uracil. As alternativas acima descritas requerem a coleta de amostras de sangue venoso, seguida de centrifugação imediata e congelamento do plasma resultante para transporte e análise procedimental do material recolhido. Tal procedimento se faz necessário devido à instabilidade do uracil e do UH2 no plasma humano, tornando extremamente complexa a logística associada a execução do teste.

[08] A possibilidade de caracterizar a atividade da enzima DPD antes do início do tratamento com 5-FU com a administração oral de uma dose teste de uracil já foi descrita. Após a ingestão da dose teste, são determinadas as concentrações plasmáticas de uracil (U) e seu metabólito dihidrouracil (UH2) através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), normalmente associada a detectores espectrofotométricos. Considerando que a enzima DPD é responsável pela redução fisiológica de uracil (U) para dihidrouracil (UH2), a avaliação da razão U/UH2 no plasma está relacionada à atividade da DPD e pode permitir individualizar as doses de 5-FU de acordo com o nível de atividade da enzima de cada paciente.

[09] Esta abordagem foi aplicada em um estudo que demonstrou que, em pacientes com deficiência de DPD, a concentração plasmática de uracil indica uma depuração do uracil diminuída. Entretanto, foram utilizadas doses variáveis de uracil, dependentes da área de superfície corporal, múltiplas coletas de sangue venoso e cálculo de parâmetros farmacocinéticos que requerem amostragem intensiva. Além disso, os procedimentos de coleta do sangue, preparo e posterior destinação das amostras são complexos, bem como no tempo de vida útil do material recolhido é reduzido.

[010] Recentemente foi descrita a utilização de amostras de saliva para determinação das concentrações endógenas de uracil e dihidrouracil como marcadores da atividade da enzima DPD em pacientes que receberam tratamento quimioterápico a base de 5-FU, com diferenças significativas nas razões UH2/U entre pacientes com e sem toxicidade severa. Entretanto, as amostras de saliva

também requerem congelamento imediato após a coleta e durante seu armazenamento e transporte.

[011] Desse modo, as técnicas atualmente disponíveis, baseadas em análises genéticas e na determinação das concentrações endógenas de uracil e dihidrouracil, embora sejam amplamente empregadas possuem baixa especificidade e sensibilidade para identificar os indivíduos com deficiência da atividade da enzima DPD. Assim pode-se verificar que essas técnicas apresentam claramente limitações de suas aplicações clínicas. A dificuldade do acondicionamento necessário para manter a integridade e para a realização do transporte das amostras é ainda um inconveniente agravante dos métodos atuais.

[012] Uma alternativa proposta pela ODPM (*Onco Drug Personalized Medicine*) é o uso combinado de dados genéticos e das concentrações endógenas de uracil e dihidrouracil em um algoritmo proprietário para estimativa do risco de toxicidade no tratamento do câncer colorretal com fluorpirimidinas, com especificidade e sensibilidade superiores a 90%. Entretanto, esta abordagem possui um custo elevado em função dos múltiplos testes e informações necessárias para o uso do algoritmo proprietário. Além disso, no estudo acima citado, em que é descrito o uso de sobrecarga de uracil para identificação de pacientes com deficiência da atividade da enzima DPD, utilizaram-se doses variáveis de uracil e múltiplas coletas de sangue venoso, o que o torna inviável para implementação em larga escala.

[013] Ainda dentro do contexto da invenção aqui proposta é possível citar ainda algumas patentes de invenção como, por exemplo, a WO 1997035034 que propõe composições, métodos e estojos para a detecção de polimorfismos genéticos ou mutações relacionadas com a deficiência da DPD. Já a patente WO 2003018837 refere-se a um kit de diagnóstico e método para determinação do grau de compatibilidade da droga utilizada no tratamento. E ainda, outra alternativa é observada na patente WO 2010035076 na qual é desenvolvido um método, a partir de um algoritmo de decisão, para otimizar a dose de 5-FU administrada por infusão contínua em tratamentos.

[014] A patente europeia EP 1712643 também apresenta uma abordagem multiparamétrica para identificação de pacientes com risco elevado de toxicidade no tratamento do câncer com fluorpirimidinas. Essa abordagem inclui a determinação da presença de mutações no gene DYPD, a determinação das concentrações endógenas plasmáticas de uracil e dihidrouracil e a utilização de um algoritmo proprietário. Contudo, este método requer a realização de múltiplos testes laboratoriais, a conservação e transporte das amostras em condições especiais e a determinação das concentrações plasmáticas de uracil e dihidrouracil em níveis próximos aos limites de quantificação da maioria dos instrumentos analíticos. É visível que esses fatores pontuados acarretam em um aumento significativo da variabilidade das medidas obtidas em análise.

[015] Outra estratégia, recentemente publicada por um grupo de pesquisadores suecos, consiste na utilização de amostras de saliva para medir concentrações basais de U e UH₂. As principais vantagens deste método são a facilidade da coleta, a dispensa da administração de qualquer fármaco antes da coleta da amostra e a maior estabilidade dos compostos em saliva quando comparada com o plasma, no qual existe atividade da DPD ainda *in vitro*. Contudo, embora tenha sido descrito diferenças significativas nas razões UH₂/U salivares entre pacientes com e sem toxicidade grave, não existe definição do desempenho diagnóstico do teste e, assim como nas amostras de plasma, a saliva deve ser mantida sob refrigeração durante o seu transporte e armazenamento, o que representa uma limitação logística significativa.

[016] Com isso, a partir dos inconvenientes existentes listados acima, é visível a existência de uma lacuna na criação de um teste diagnóstico prático para determinação da potencial intolerância de um dado paciente em tratamento com fármacos quimioterápicos. Verifica-se ainda a necessidade de um novo método que vise a melhoria nas técnicas de coleta, armazenamento e transporte das amostras biológicas para tal identificação.

Novidades e objetivos da invenção

[017] Com o objetivo de sanar as falhas do estado atual da técnica destacadas acima, a presente invenção visa propor uma solução para o problema principal relacionado aos elevados custos dos procedimentos para a detecção da redução da atividade da enzima DPD. A solução em questão prevê a redução e/ou a eliminação de etapas como os métodos que necessitam de centrifugação, refrigeração do plasma, armazenagem e transporte de forma adequada para que as amostras não sejam danificadas. Além disso, a presente invenção visa eliminar a coleta de múltiplas amostras de sangue venoso, o que atualmente dificulta a implementação em larga escala do procedimento.

[018] Levando em consideração estes fatores, o invento, objeto do presente relatório, propõe um kit e método não invasivos para teste diagnóstico em pacientes em tratamento, visando a determinação do nível de intolerância destes indivíduos a fármacos quimioterápicos da classe das fluorpirimidinas. O método em questão compreende etapas simples de coleta de saliva, armazenagem e transporte da amostra coletada. Por fim, é associada uma avaliação da atividade da enzima dihidropirimidina desidrogenase e, através de um algoritmo, é estipulada uma classificação do risco individual de que o paciente apresente toxicidade de graus III, IV e V no tratamento quimioterápico.

[019] As vantagens do método consistem na utilização de amostras que são coletadas de forma não invasiva, sendo suficiente a coleta de apenas uma amostra biológica para determinação das concentrações de uracil (U) e dihidrouracil (UH₂). Ademais, a estabilização das concentrações dessas substâncias na saliva seca em papel é executada através da adição de gimeracil, o que permite o transporte não refrigerado da amostra. O teste para determinação da deficiência de DPD a partir da coleta de uma amostra de saliva em papel, representa uma alternativa simplificada e com possibilidade de realização em locais de mais difícil acesso.

[020] Resumidamente, os principais componentes da invenção consistem em: cilindro de algodão para coleta de saliva, seringa para eluição da saliva do cilindro

de algodão, cartão para aplicação da saliva impregnado com o estabilizante gimeracil e embalagem para transporte do cartão com a amostra. Associada aos itens para obtenção, armazenagem e transporte da amostra do teste, a invenção inclui um método analítico para determinação das concentrações de uracil e dihidrouracil. Essas concentrações são obtidas através da análise do papel contendo a saliva seca por meio de cromatografia líquida de alta eficiência associada a espectrometria de massas sequencial. Além disso, é empregado um algoritmo para identificação dos pacientes com risco elevado de toxicidades graus III-V devido a quimioterapia com fluorpirimidinas.

Descrição dos desenhos anexos

[021] A fim de que a presente invenção seja plenamente compreendida e levada à prática por qualquer técnico deste setor tecnológico, a mesma será descrita de forma clara, concisa e suficiente, tendo como base o diagrama de blocos do processo de teste de deficiência da enzima DPD de acordo com a

[022] **Figura 1** representa o diagrama de blocos das etapas do método para teste de deficiência da enzima DPD para pacientes em tratamento com fluorpirimidinas.

[023] **Figura 2** representa o diagrama de blocos das etapas de coleta de material biológico do método proposto na presente intenção através de coleta de saliva do paciente.

[024] **Figura 3** representa o diagrama de blocos das etapas de coleta de material biológico do método proposto na presente intenção através de coleta de sangue venoso do paciente.

[025] **Figura 4** representa, exemplificativamente, o cartão de coleta com papel especial do presente kit para teste de deficiência da enzima DPD para pacientes em tratamento com fluorpirimidinas.

[026] **Figura 5** representa a relação seringa e cilindro de algodão do presente kit para teste de deficiência da enzima DPD para pacientes em tratamento com fluorpirimidinas a partir da saliva.

Descrição detalhada da invenção

[027] O kit para teste de deficiência da enzima dihidropirimidina desidrogenase sobrecarga de uracil, que compõe a invenção, é compreendido basicamente de seringa descartável, cartão de coleta em papel *Whatman* 903 ou similar, cilindro de algodão, envelope plasmático com dissecador para transporte do cartão de coleta, suporte plástico para transporte não refrigerado dos componentes do kit e cartão de instruções de coleta.

[028] O cartão para coleta (1) composto de papel *Whatman* 903 ou similar é impregnado com gimeracil nas áreas de disposição das amostras coletadas (2), a fim de inibir a atividade da DPD. Além disso, a seringa descartável apresenta diâmetro D e o cilindro de algodão apresenta diâmetro D-n, sendo n uma unidade mínima que permita a introdução de tal cilindro no interior da seringa descartável.

[029] Conforme observado na Figura 1, na qual é apresentado o diagrama de blocos do método para o teste de deficiência da enzima DPD para pacientes em tratamento com flourpirimidinas através da coleta de uma amostra de material biológico do paciente. O material biológico é coletado do paciente através de um modo não invasivo, através da obtenção de uma amostra de saliva. Uma vez coletado o material, a amostra obtida é aplicada em um cartão de coleta (1) impregnado ou não de gimeracil, a fim de inibir a atividade da DPD. O cartão de coleta (1) então é seco e introduzido em um envelope com dissecador para que seja transportado para posterior análise. A análise do material coletados se dá a partir da perfuração do cartão de coleta (1) e consequente extração de um disco (2) impregnado da amostra coletada. A amostra é então extraída do disco (2) com ação de um solvente orgânico, preferencialmente metanol, acetato de etila, isopropanol e suas misturas, e, posteriormente, será concentrada através de aquecimento moderado em condições de vácuo. A amostra concentrada é injetada em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detector seletivo de massas, com seus componentes separados por eluição em gradiente em uma coluna de cromatografia. As concentrações de uracil e dihidrouracil são determinadas com base na razão de áreas entre os analitos e o padrão interno, e

após são comparadas com as concentrações da curva de calibração do Cromatógrafo. O risco de toxicidade do paciente é então determinado com base na proporção entre as concentrações salivares de dihidrouracil e uracil (razão UH2/U), conforme descrito abaixo.

[030] Quando o teste de deficiência da enzima DPD para pacientes em tratamento com fluorpirimidinas é realizado através da saliva, o material biológico é coletado de forma não invasiva através da introdução de um cilindro de algodão (4) na boca do paciente durante 2 a 3 minutos, preferencialmente 2 minutos. O cilindro de algodão (4) absorve cerca de 2 ml a 5 ml de saliva do paciente, preferencialmente 3 ml de saliva do paciente. Após, o cilindro de algodão (4) é removido com instrumento esterilizado e será introduzido no interior da seringa descartável (3). Através do êmbolo (5) da seringa (3), o cilindro de algodão (4) é comprimido possibilitando a extração da saliva para análise. Com o auxílio da seringa descartável (3), as amostras de saliva deverão ser aplicadas no cartão para coleta (1).

[031] A determinação das concentrações basais de U e UH2 em amostras de saliva do paciente, através de cromatografia líquida de alta eficiência associada a espectrometria de massas sequencial, indicam alto grau de certeza na determinação dos pacientes de que irão desenvolver toxicidade severa durante o tratamento quimioterápico. Os testes em questão indicam um valor de corte da razão de concentrações UH2/U em saliva de 1,16. Sendo assim, razões inferiores a 1,16 indicam menor atividade DPD. Tal teste com a utilização da saliva apresenta sensibilidade 85% e especificidade de 72% para identificar os pacientes que apresentarão toxicidades de graus III e IV em tratamentos quimioterápicos com fluoropirimidinas.

[032] Além disso, é possível minimizar o impacto dos testes falso-positivos em regimes infusões através da medida de concentrações plasmáticas de 5-FU no primeiro ciclo, no caso do uso de doses reduzidas, e o consequente cálculo da área sob a curva, com ajuste de doses para os ciclos posteriores. De forma similar, falsos-negativos poderão ser identificados pela determinação de níveis

plasmáticos de 5-FU, que potencialmente deverão estar acima dos limites já estabelecidos na literatura como os mais seguros.

[033] É importante salientar que a figura e descrição realizadas não possuem o condão de limitar as formas de execução do conceito inventivo ora proposto, mas sim de ilustrar e tornar compreensíveis as inovações conceituais reveladas nesta solução. Desse modo, as descrições e imagens devem ser interpretadas de forma ilustrativa e não limitativa, podendo existir outras formas equivalentes ou análogas de implementação do conceito inventivo ora revelado e que não fujam do espectro de proteção delineado na solução proposta.

[034] Tratou-se no presente relatório descritivo de um inovador método e kit para a determinação de pacientes que possuem deficiências na atividade da enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD), dotado de novidade, atividade inventiva, suficiência descritiva, aplicação industrial e, conseqüentemente, revestido de todos os requisitos essenciais para a concessão do privilégio pleiteado.

REIVINDICAÇÕES

1. KIT PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS caracterizado por conter:

- Seringa descartável (3);
- Cartão de coleta (1) de material biológico impregnado de gimeracil ou não, dotado de discos (2) de disposição das amostras coletadas;
- Envelope com dissecador para cartão de coleta;
- Suporte plástico; e
- Cartão de instruções de coleta.

2. MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- Coletar a amostra de material biológico do paciente;
- Aplicar a amostra obtida em um cartão de coleta impregnado de gimeracil ou não (1);
- Introduzir o cartão de coleta (2) em um envelope com dissecador para transporte;
- Perfurar o cartão de coleta (1) impregnado da amostra coletada;
- Extrair um disco (2) impregnado da amostra coletada;
- Extrair a amostra com um solvente orgânico;
- Concentrar o extrato;
- Injetar o extrato orgânico em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência;
- Determinar as concentrações de uracil e dihidrouracil das amostras coletadas;
- Comparar as concentrações de uracil e dihidrouracil com a curva de calibração; e
- Determinar o risco de toxicidade severa.

3. MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS conforme reivindicação 2, e ainda caracterizado por realizar análise de amostra biológica salivar.

4. PROCESSO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS conforme reivindicação 2, e ainda **caracterizado pela** etapa de coletar a amostra de material biológico do paciente quando avaliada amostra biológica salivar, compreender as seguintes etapas:

- Introduzir o cilindro de algodão (4) na boca do paciente;
- Remover o cilindro de algodão (4) da boca do paciente;
- Introduzir o cilindro de algodão (4) no interior da seringa descartável (3);
- Comprimir o cilindro de algodão (4) através do êmbolo (5) da seringa descartável (3); e
- Aplicar a amostra obtida em um cartão de coleta impregnado de gimeracil ou não (1).

5. MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS conforme reivindicação 2, e ainda **caracterizado pelo** disco com material biológico do cartão de coleta ser extraído com solvente orgânico adicionado de substância de padrão interno análoga ao uracil.

6. MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS conforme reivindicação 2, e ainda **caracterizado pela** etapa de determinar concentrações de uracil e dihidrouracil ser obtida com base na razão entre os analitos e o padrão interno.

7. MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS conforme reivindicações 2 e 4, e ainda **caracterizado pela** etapa de determinar o risco de toxicidade severa em amostras de saliva do paciente, com razões inferiores a 1,16, indicar menor atividade DPD.

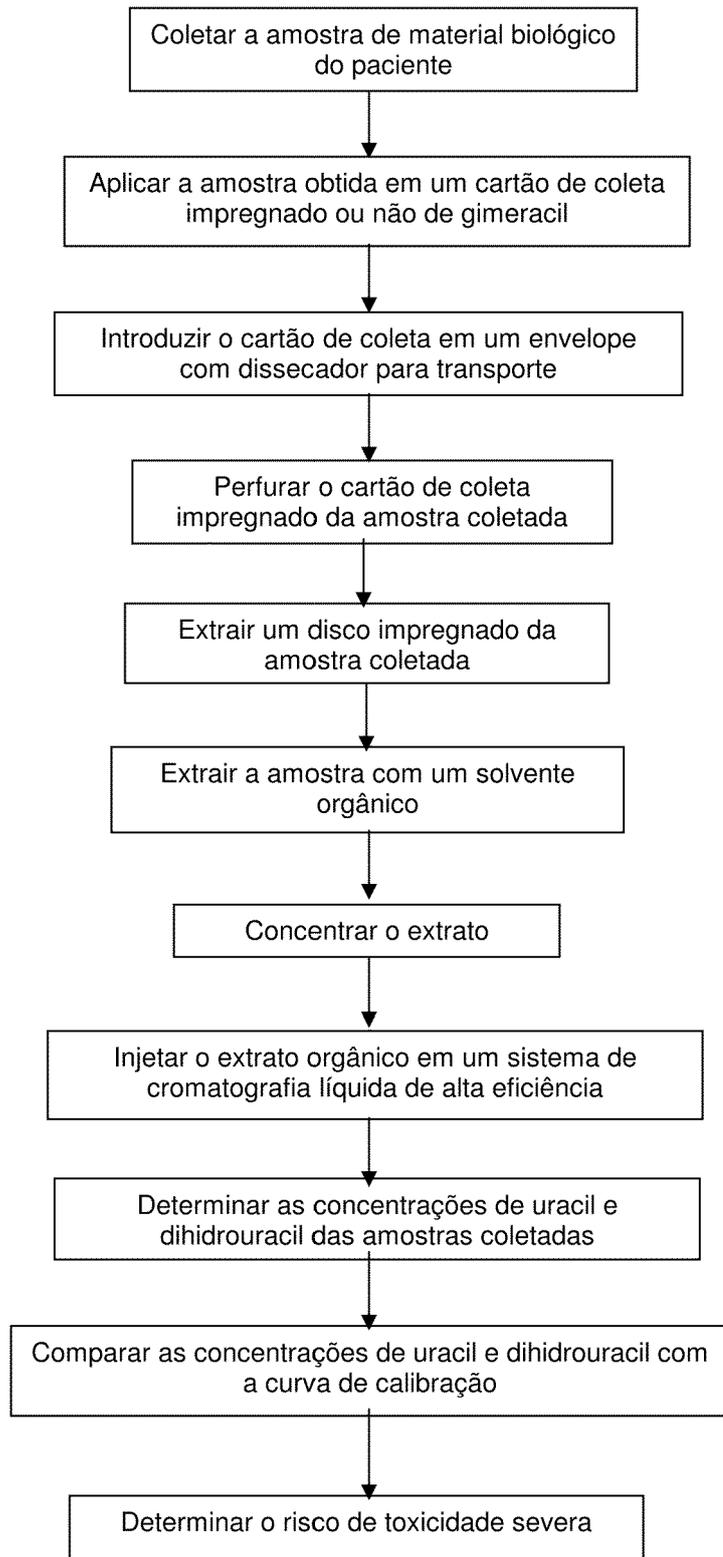


Fig. 1

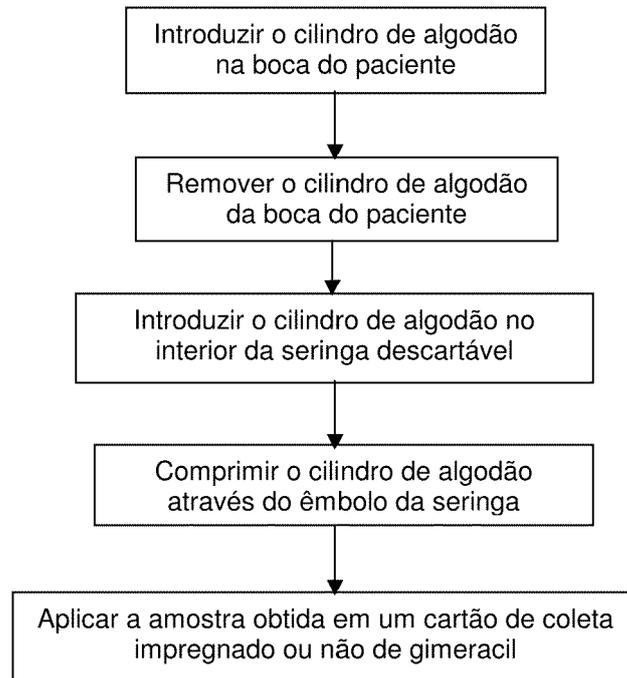


Fig. 2

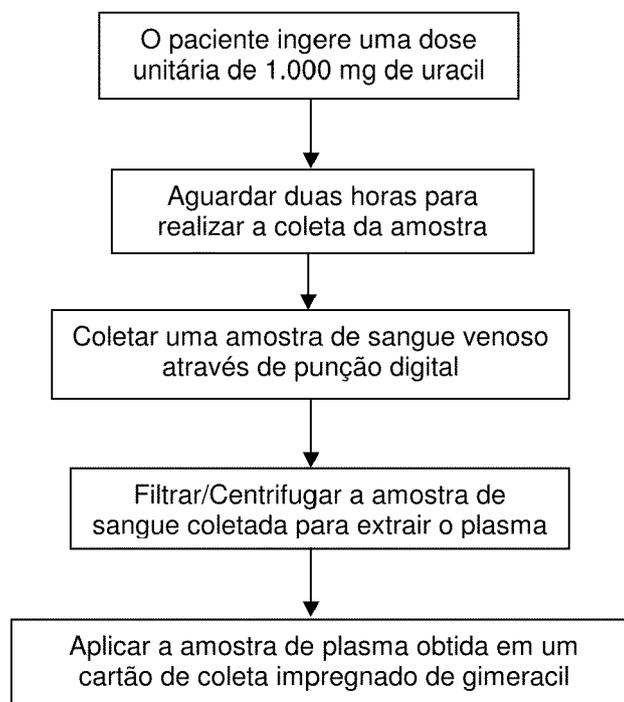


Fig. 3

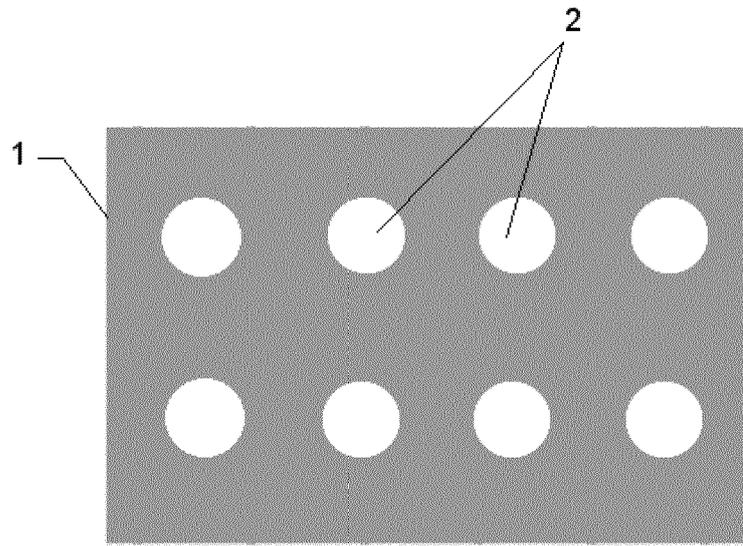


Fig. 4

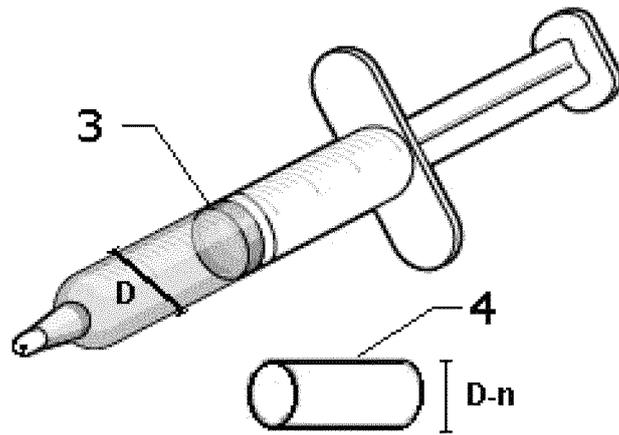


Fig. 5

RESUMO

KIT E MÉTODO PARA TESTE DE DEFICIÊNCIA DA ENZIMA DPD PARA PACIENTES EM TRATAMENTO COM FLUOROPIRIMIDINAS

A presente invenção pertence ao setor tecnológico da quimioterapia do câncer e da farmacologia bioquímica e refere-se, mais especificamente, a um teste diagnóstico para determinar a potencial intolerância de um dado paciente a fármacos quimioterápicos da classe das fluorpirimidinas. Compondo o invento, há o desenvolvimento de um kit para utilização no teste de deficiência da enzima DPD, assim como uma forma de coleta, armazenamento e transporte da amostra do material biológico seco em papel. O kit proposto permite a análise da toxicidade de pacientes realizando tanto análises da saliva. É estipulada uma classificação do risco individual de que o paciente apresente toxicidade de graus III, IV e V no tratamento quimioterápico com fluorpirimidinas. As vantagens do invento consistem na coleta de apenas uma amostra biológica para determinação das concentrações de uracil (U) e dihidrouracil (UH₂), assim como a estabilização das concentrações dessas substâncias secas em papel através da adição de gimeracil, que permite o transporte não refrigerado da amostra.