1. Finalità e campo di applicazione

La finalità di questa istruzione operativa è l'analisi dei polimorfismi del gene *DPYD*.

Il campo di applicazione di questa istruzione operativa è costituito dall'analisi dei polimorfismi del gene *DPYD*.

La S.S. Diagnostica molecolare esegue l'analisi dei polimorfismi del gene *DPYD* su:

- campioni di sangue

L'esame viene eseguito nei pazienti oncologici prima di iniziare la terapia con fluoropirimidine. L'analisi molecolare del gene DPYD viene effettuata su DNA germinale estratto da sangue periferico raccolto in provetta con anticoagulante (EDTA). Il campione può essere conservato in provetta chiusa, sterile e a temperatura ambiente per un periodo massimo di 48 ore.
Le fluoropirimidine (5-FU, capecitabina) vengono inattivate per 80% a 5-fluoro diidrouracile ad opera della diidropirimidina deidrogenasi (DPD) principale enzima del metabolismo della fluoropirimidina, codificato dal gene DPYD. Una carenza enzimatica del DPD, indotta dalla presenza di polimorfismi della regione codificante, può portare a grave tossicità gastrointestinale ed ematologica. L'European Medicines Agency (EMA) sottolinea l'importanza di verificare la presenza delle mutazioni *DPYD* predittive di tossicità prima di iniziare il trattamento con 5-fluorouracile, capecitabina, o tegafur, per stabilire il dosaggio ottimale di farmaco, insieme ad altre linee guida nazionali (Raccomandazioni AIOM-SIF 2019 e Nota Informativa AIFA 2020).

2. Sigle

DNA	*Deoxyribonucleic Acid*
PCR	*Polymerase Chain Reaction*
DPYD	*Dihydropyrimidine Dehydrogenase*

3. Modifiche alla revisione precedente

Questa IO sostituisce IOH775_0034

4. Contenuto

La tecnica incaricata della S.S. Diagnostica molecolare esegue l'estrazione del DNA da sangue (vedi I.O. **Estrazione degli acidi nucleici punto** 4.2.1.).

4.1.1 Protocollo per l'analisi dei polimorfismi del gene DPYD

L'analisi dei polimorfismi viene eseguita mediante real time PCR con kit (CE-IVD) EasyPGX ready DPYD (Diatech Pharmacogenetics) secondo le istruzioni del produttore in stanza 53 che rileva i seguenti polimorfismi:

Allele	Variazione Aminoacidica	Reference SNP	HGVS
DPYD*2A	IVS14+1G>A	rs3918290	c.1905+1G>A
DPYD*13	p.I560S	rs55886062	c.1679T>G
DPYD D949V	p.D949V	rs67376798	c.2846A>T
DPYD IVS10	IVS10C>G, HapB3	rs75017182	c.1129–5923C>G
DPYD*6	V732I	rs1801160	c.2194G>A

EasyPGX® ready DPYD (Diatech Pharmacogenetics) è validato per uso con **Easy PGX qPCR instrument 96** (Diatech Pharmacogenetics) posto in stanza 52. La procedura è descritta nel manuale Easy PGX ready DPYD.
L'analisi è effettuata in modo automatico dal software Easy PGX analysis che fornirà un report con i risultati finali.

Tutti i reagenti vengono conservati secondo le indicazioni del produttore.

5. Responsabilità

La tecnica incaricata del laboratorio di patologia molecolare è responsabile della fase pre-analitica.
La biologia incaricata è responsabile della fase analitica.
La biologia incaricata è responsabile della fase post-analitica.

6. Bibliografia – Normativa di riferimento

1. Raccomandazioni AIOM-SIF 2019 e Nota Informativa AIFA del 25 Maggio 2020 (https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1097058/2020.05.25_NII_5-FU-capecitabina-tegafur.pdf/80ad3a42-d511-a370-4457-98dea54b30be).
2. Aggiornamento linee guida Clinal Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC)-Gennaio 2024 https://cpicpgx.org/guidelines/guideline-for-fluoropyrimidines-and-dpyd/