Informativa su EDIT-B®

Test basato sul rilevamento di biomarcatori ematici di RNA per la diagnosi differenziale del disturbo bipolare e della depressione unipolare

Questo documento descrive in dettaglio il protocollo per l'utilizzo del test EDIT-B® ed è disponibile sulla piattaforma EDIT-B®.

Il test EDIT-B® non è un test di autodiagnosi.

Il test EDIT-B® non è un test diagnostico di accompagnamento (companion diagnostic).

Il test EDIT-B® è destinato esclusivamente a professionisti qualificati.

Identificazione del dispositivo IVD	Fabbricante	Rappresentante autorizzato in Svizzera
Nome prodotto: **EDIT-B®** Riferimento prodotto: **0100**	ALCEDIAG Cap Gamma 1682 rue de la Valsiere 34790 GRABELS FRANCE Email: support.edit-b@alcediag-alcen.com Site: https://www.alcediag-alcen.com	EUMEDIQ AG Grafenauweg 8 6300 Zug SVIZZERA Email: complaint@eumediq.eu

EDIT-B® è un dispositivo medico diagnostico in vitro marcato CE secondo la direttiva europea 98/79/CE.

Le istruzioni per l'uso sono disponibili in tre lingue (FR, EN e IT) in formato elettronico.

Questa versione è compatibile con la versione software: **EDITBV1260917**

Indice

1. Descrizione del test 3
Uso previsto 3
Descrizione del test 3
Descrizione del protocollo biologico 4
Descrizione del software 5
Panoramica del test 6
2. Principi scientifici e tecnici del test 6
3. Condizioni d'uso 7
4. Precauzioni per l'uso 7
5. Limitazioni d'uso e raccomandazioni tecniche 8
Limitazioni d'uso 8
Raccomandazioni tecniche 8
Protocollo 8
Software e informatica 8
6. Misure di sicurezza informatica associate a EDIT-B® 9
7. Prelievo e conservazione dei campioni 9
8. Metodo di analisi del campione 10
Reagente 10
Materiale 11
9. Piattaforma EDIT-B® 11
10. Risultati del test EDIT-B® 11
Regole decisionali per i risultati del test EDIT-B® 12
Specifiche del test EDIT-B® 12
11. Performance del test EDIT-B® 13
Performance cliniche 13
Performance analitiche 15
12. Contatti 18
13. Simboli 18
14. Abbreviazioni 19
15. Riferimenti bibliografici 20

1. Descrizione del test

Uso previsto

EDIT-B® è un dispositivo medico in vitro (IVD) qualitativo destinato a differenziare il disturbo bipolare dal disturbo depressivo maggiore al fine di agevolare la diagnosi.

EDIT-B® combina la tecnologia di sequenziamento dell'RNA per misurare gli obiettivi di editing dell'RNA (da un pannello di biomarcatori nel sangue intero) e i dati dei singoli pazienti (età, sesso, trattamenti, consumo o dipendenze [tabacco, alcol]) [1].

La prescrizione di EDIT-B® è destinata esclusivamente ai medici autorizzati a formulare una diagnosi di malattie psichiatriche.

EDIT-B® fa parte del processo diagnostico dei disturbi dell'umore, in aggiunta ai metodi diagnostici abituali, come il DSM-5, i criteri dell'ICD-11 e le scale cliniche (MADRS, HDRS, BDI, ecc.) [2, 3]. I risultati del test devono integrare le argomentazioni cliniche e comportamentali solitamente utilizzate dal medico per formulare la diagnosi definitiva.

EDIT-B® è destinato ad essere utilizzato su pazienti di età pari o superiore a 18 anni maschi o femmine, con un episodio attuale depressivo maggiore (moderato o grave) e sottoposti a trattamento* per tale depressione al momento del test.

**Secondo la classificazione ATC, si considerano cinque classi di trattamento: antiepilettici, antipsicotici, ansiolitici, ipnotici/sedativi e antidepressivi.*

Descrizione del test

Il dispositivo è composto da due parti:

- Un protocollo biologico di trattamento in vitro del campione di sangue
- Un software di elaborazione bioinformatica dei dati di sequenziamento ottenuti (composto da una piattaforma e da un algoritmo)

Qui di seguito vengono presentati i passaggi per l'uso del prodotto EDIT-B®:

1. Medico

EDIT-B® può essere dispensato solo su prescrizione medica e la prescrizione può essere dispensata esclusivamente da medici abilitati a diagnosticare malattie psichiatriche.

2. Campione di sangue

Il campione di sangue del paziente viene prelevato presso un laboratorio clinico autorizzato (accreditamento Alcediag).

3. Laboratorio centrale

Il laboratorio clinico elabora il campione di sangue secondo il protocollo EDIT-B®. Successivamente, i dati di sequenziamento e i metadati del paziente EDIT-B® vengono caricati dall'utente sulla piattaforma EDIT-B®.

4. Analisi dei dati Alcediag

L'algoritmo EDIT-B® elabora i dati scaricati in precedenza. Alcediag esegue un controllo dei risultati prima di renderli disponibili sulla piattaforma EDIT-B®.

5. Trasmissione dei risultati da parte di Alcediag all'utente

Una volta convalidato da Alcediag, il rapporto dei risultati viene rilasciato e reso accessibile all'utente che può scaricarlo dalla piattaforma EDIT-B®.

6. Trasmissione dei risultati dall'utente al medico

Il laboratorio centrale prepara il proprio rapporto dei risultati sulla base del rapporto pubblicato sulla piattaforma EDIT-B®. Il laboratorio centrale invia il rapporto appena generato al medico.

7. Diagnosi annunciata al paziente

Il paziente viene informato del risultato del test dal medico.

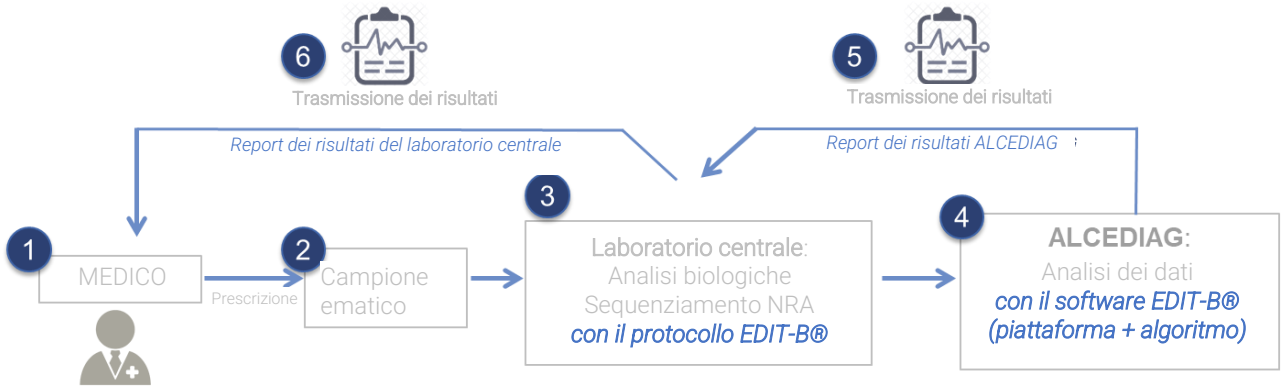

*Figura 1 - Processo generale di utilizzo di **EDIT-B®***

Descrizione del protocollo biologico

Alcediag ha sviluppato un protocollo biologico realizzato da un laboratorio medico accreditato da Alcediag stessa.

A partire da un campione di sangue prelevato in una provetta PAXgene®, vengono estratti e analizzati gli RNA totali.

Vengono realizzati diversi controlli di qualità per verificare la concentrazione e l'integrità degli RNA misurando il numero di integrità dell'RNA (RIN, RNA Integrity Number).

Gli RNA vengono successivamente retro-trascritti in DNA complementare.

Per ogni target viene eseguito separatamente un passaggio di PCR utilizzando primer specifici.

I diversi prodotti PCR vengono diluiti e raggruppati per paziente per eseguire una PCR di indicizzazione, consentendo la preparazione della libreria di sequenziamento.

Il passaggio finale di questo protocollo biologico è il sequenziamento di nuova generazione su NextSeq 500/550 Illumina. Il passaggio di estrazione e il passaggio finale della libreria sono

scanditi da controlli di qualità per garantire il regolare svolgimento dell'esperimento (concentrazione dell'RNA dopo l'estrazione/profilo, purezza e concentrazione della libreria).

I dati grezzi del sequenziamento vengono poi trasferiti ad ALCEDIAG dal laboratorio medico in un formato adatto (*.fastq.gz) tramite un portale web sicuro per l'elaborazione e l'analisi bioinformatica mediante software EDIT-B®.

Descrizione del software

Il sistema software EDIT-B® è costituito da un algoritmo e da una piattaforma web. La figura di seguito descrive l'architettura software complessiva:

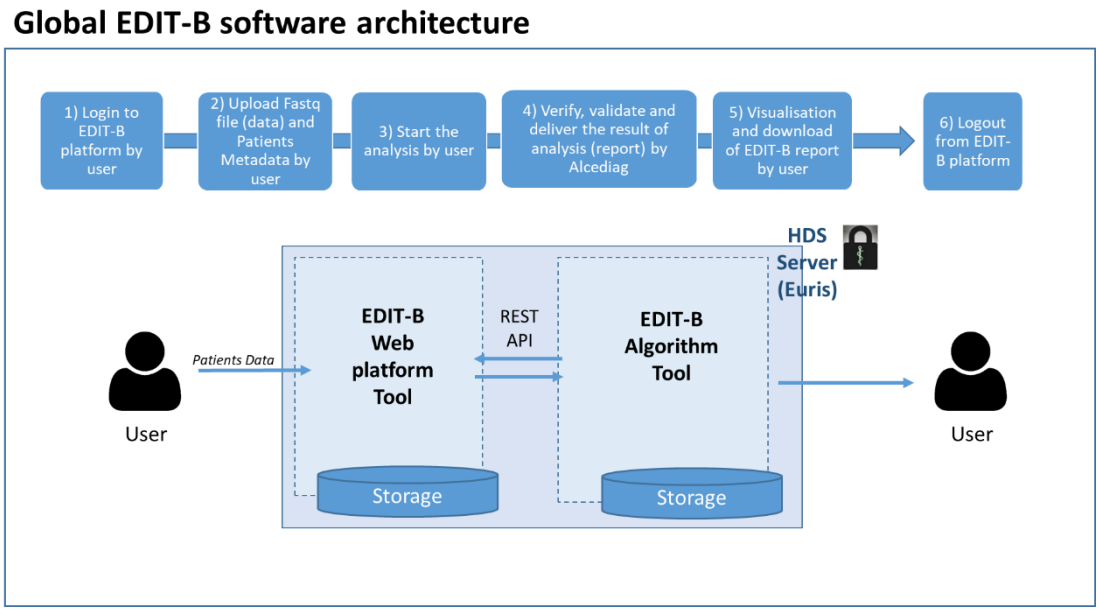

Figura 2 – Architettura software complessiva EDIT-B®

Una volta completato il protocollo biologico e trasferiti i dati alla piattaforma (dati di sequenziamento NGS e metadati), le sequenze di RNA vengono pulite e ne viene verificata la qualità. Successivamente, le sequenze vengono allineate con il genoma di riferimento e viene misurato il livello di editing dell'RNA da A I per ciascun marcatore target. Utilizzando i livelli di editing dell'RNA calcolati combinati con i metadati del paziente, l'algoritmo EDIT-B® di ALCEDIAG consente di determinare una diagnosi qualitativa per ciascun campione valutato.

Viene quindi creato un rapporto con tutti i dati rilevanti per il biologo che ha analizzato il campione: diagnosi qualitativa, profondità e qualità del sequenziamento, qualità del controllo di allineamento delle sequenze, ecc.

Il rapporto risultante è disponibile tramite il portale web EDIT-B® sicuro in modo che il laboratorio clinico possa scaricarlo, firmarlo e inviarlo al medico prescrittore.

Panoramica del test

Da un campione di sangue prelevato in una provetta PAXgene® Blood RNA dai punti di prelievo abituali, vengono effettuate le analisi biologiche presso laboratori di biologia medica accreditati per il sequenziamento dell'RNA e approvati dalla società ALCEDIAG.

Il calcolo del punteggio viene poi effettuato da un software sviluppato da ALCEDIAG, che contiene moduli per il controllo di qualità e un algoritmo per determinare il risultato del paziente. L'algoritmo di calcolo del punteggio è ospitato su una piattaforma di tipo SaaS (Software as a Service), accessibile tramite il sito Web http://edit-b.alcediag-alcen.com/. La piattaforma offre un accesso dedicato ai laboratori di biologia medica (autorizzazione all'accesso gestita dalla società ALCEDIAG). È conforme agli standard europei di sicurezza e di gestione dei dati sanitari e al GDPR (Regolamento generale sulla protezione dei dati). I processi di analisi e di calcolo degli algoritmi sono brevettati.

2. Principi scientifici e tecnici del test

La componente biologica del test **EDIT-B®** rientra in una sottocategoria specifica della biologia molecolare chiamata epigenetica. Mentre la genetica è lo studio dei geni e dell'ereditarietà, l'epigenetica si concentra su un aspetto complementare, in particolare su come i fattori ambientali attivano/disattivano o regolano i geni e influenzano l'espressione genica [4, 5]. I processi epigenetici sono reversibili e dinamici, in quanto si evolvono nel tempo. Sono influenzati da fattori ambientali, in senso lato (patologie, alimentazione, attività fisica, stress, farmaci, ecc.) [6, 7]. Pertanto, i biomarcatori epigenetici consentono un approccio dinamico alla diagnosi [8], tenendo conto delle condizioni dei pazienti, della potenziale progressione della malattia e dell'impatto del trattamento [9, 10].

L'editing dell'RNA è uno dei fenomeni epigenetici. Si tratta di un meccanismo fisiologico che si verifica in qualsiasi individuo e che è influenzato, tra l'altro, dalla patologia e/o dai farmaci [11-13]. Consiste nella sostituzione, in punti specifici dell'RNA, di un'adenosina con un'inosina, sotto l'azione specifica di enzimi [11, 14]. Diversi studi hanno dimostrato che l'editing dell'RNA è coinvolto in molte funzioni fisiologiche e può influenzare le proteine e i meccanismi di regolazione [4].

Uno dei processi più studiati che si verificano a livello dell'RNA è la deamminazione dell'adenosina ad inosina (A-to-I). È stato dimostrato che tale processo viene modificato in diversi disturbi neuropsichiatrici. In particolare, l'editing dell'RNA regola alcune funzioni sinaptiche attraverso un'alterazione della funzionalità di recettori chiave, con un impatto diretto sulla trasmissione sinaptica [15]. L'editing dell'RNA è un meccanismo che collega infiammazione e neuropsichiatria [11, 16-19], le alterazioni dell'editing dell'RNA associate ad alcune malattie mentali (come la depressione, la tendenza al suicidio, ecc.), ma anche ad alcune malattie infiammatorie [20] e ad alcuni tipi di cancro [21]. ALCEDIAG ha utilizzato il sequenziamento mirato dell'RNA su 8 geni selezionati attraverso diversi studi scientifici e clinici, combinato con l'intelligenza artificiale [46-50], per oggettivare e quantificare il meccanismo di editing dell'RNA e sviluppare uno strumento per la diagnosi differenziale della depressione unipolare e del disturbo bipolare [47].

3. Condizioni d'uso

EDIT-B® deve essere prescritto da un medico autorizzato a caratterizzare un episodio depressivo. La prescrizione medica deve riportare le informazioni generali del paziente, le classi terapeutiche assunte dal paziente in relazione al test EDIT-B® ed eventuali consumi e dipendenze (tabacco/alcool).

I dettagli necessari per la prescrizione sono descritti nel manuale d'uso di EDIT-B®.

Il test deve essere eseguito durante l'episodio depressivo del paziente, nell'ambito di una consultazione medica.

Come ausilio alla diagnosi, il risultato di EDIT-B® fornisce al medico dati supplementari sul paziente.

EDIT-B® viene eseguito secondo un metodo standardizzato che richiede la stretta osservanza delle procedure pre-analitiche, analitiche e post-analitiche, come descritto nel protocollo EDIT-B® fornito al laboratorio da ALCEDIAG. Per eseguire il test, i laboratori devono essere approvati da ALCEDIAG.

4. Precauzioni per l'uso

Precauzioni preanalitiche EDIT-B®:

- Il campione di sangue deve essere prelevato subito dopo la prescrizione (nei giorni successivi), per assicurarsi che il paziente sia ancora nello stesso stato di depressione.
- Il laboratorio deve rispettare le raccomandazioni preanalitiche e analitiche previste dal protocollo EDIT-B®.

Precauzioni per l'interpretazione dei risultati EDIT-B® per gli operatori sanitari:

- Un risultato che indica un profilo depressivo unipolare non esclude necessariamente la presenza di un disturbo bipolare. È obbligatorio formulare la diagnosi tenendo conto di tutti i fattori clinici e biologici relativi al paziente e mantenere un monitoraggio regolare del paziente.
- Un risultato che indica un profilo di disturbo bipolare non significa formalmente che il paziente ne sia affetto. È obbligatorio formulare la diagnosi tenendo conto di tutti i fattori clinici e biologici relativi al paziente e mantenere un monitoraggio regolare del paziente.
- In caso di discrepanza tra il risultato EDIT-B® e altri strumenti diagnostici (DSM-5, ICD-11, MADRS, HDRS, BDI, ecc.), è indispensabile fare riferimento alle conclusioni del medico prescrittore.
- EDIT-B® non può sostituire la diagnosi clinica del medico prescrittore. Le cause di queste discrepanze possono essere di origine pre-analitica, analitica o post-analitica, dovute al mancato rispetto delle condizioni d'uso del test diagnostico e/o al mancato rispetto del protocollo e/o associate alle percentuali di falsi positivi e falsi negativi.

5. Limitazioni d'uso e raccomandazioni tecniche

Limitazioni d'uso

EDIT-B® non è indicato nei seguenti casi:

- Paziente di età inferiore ai 18 anni;
- Paziente con sintomi maniacali;
- Per scopi diagnostici autonomi

EDIT-B® non è stato testato nei seguenti tipi di pazienti:

- Donne in stato di gravidanza

Raccomandazioni tecniche

Protocollo

EDIT-B® deve essere utilizzato:

- per un minimo di 8 campioni (1 NTC + 7 campioni paziente) e un massimo di 96 campioni (1 NTC + 95 campioni paziente)
- con i reagenti, i materiali e i primer menzionati nel manuale d'uso di EDIT-B®.
- con un controllo senza matrice (NTC, No Template Control), ovvero un controllo di qualità con acqua nel processo.

La raccolta del sangue nelle provette PAXgene® deve seguire le raccomandazioni del produttore (riferimento 762165 di PreAnalytix).

Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati con le consuete precauzioni. Lo smaltimento dei rifiuti deve avvenire in conformità alle normative locali vigenti.

Software e informatica

L'uso di EDIT-B® è soggetto alle seguenti condizioni tecniche:

- Sequencing Analysis Viewer (SAV): versione 2.4 e superiori
- Gestore di esperimenti IEM Illumina: versione 1.19 o successiva
- Illumina BaseSpace Hub o Illumina BCL convert
- Computer con connessione a internet
- Browser web (tra cui Mozilla Firefox (versione 133.0 o superiore), Google Chrome (versione 131.0.6778 o superiore), Apple Safari (versione 14 o superiore), Microsoft Edge (versione 130.0.2849 o superiore) e Opera Browser (versione 115.0.5322.68 o superiore)).

6. Misure di sicurezza informatica associate a EDIT-B®

Le seguenti misure di sicurezza informatica sono state messe in atto da ALCEDIAG:

- Server HDS
- Sicurezza fin dalla progettazione (architettura software a 3 livelli)
- Crittografia dei dati
- Controllo degli accessi (autenticazione a più fattori, meccanismo CAPTCHA)
- Segmentazione e monitoraggio della rete
- Test di intrusione periodici
- Backup dei dati e archiviazione fuori sede (archiviazione ridondante)

7. Prelievo e conservazione dei campioni

EDIT-B® viene eseguito da un campione di sangue intero prelevato in una provetta PAXgene® Blood RNA da 2,5 ml (dispositivo marcato CE). Il prelievo di campioni di sangue può essere effettuato in qualsiasi momento della giornata. Il campione deve essere agitato e conservato conformemente alle istruzioni per l'uso delle provette PAXgene®

Raccomandazioni del produttore di PAXgene®

Le provette PAXgene® Blood RNA contengono una composizione di reagente esclusiva basata su una tecnologia brevettata di stabilizzazione dell'RNA (brevetti statunitensi 6 602 718 e 6 617 170). Questo reagente aiuta a proteggere le molecole di RNA dalla degradazione da parte delle RNAsi e riduce al minimo i cambiamenti ex vivo nell'espressione genica.

Le provette PAXgene® Blood RNA sono progettate per la raccolta di sangue intero e la stabilizzazione dell'RNA intracellulare. Subito dopo il prelievo del sangue, le provette PAXgene® Blood RNA devono essere capovolte delicatamente da 8 a 10 volte. Le provette devono quindi rimanere in posizione verticale a temperatura ambiente (18-25 °C) per almeno 2 ore e non oltre 72 ore prima di essere elaborate o trasferite in frigorifero (2-8 °C) o congelatore (-20 °C). Se è richiesta la conservazione a -70 °C o -80 °C, le provette devono essere prima congelate a -20 °C per 24 ore e poi trasferite a -70 °C o -80 °C.

La stabilità dell'RNA nelle provette PAXgene® è:

- Fino a 3 giorni a temperatura ambiente (18-25 °C)
- Fino a 5 giorni a 2-8 °C
- 11 anni a -20 °C o -70 °C.

Tenendo conto delle istruzioni di cui sopra, ALCEDIAG tiene conto delle specifiche di stabilità dei campioni di PreAnalytiX. In conclusione, Alcediag ritiene che non sia necessario effettuare test complementari.

8. Metodo di analisi del campione

Il protocollo di preparazione della libreria EDIT-B® viene fornito ai laboratori accreditati da ALCEDIAG per l'esecuzione dell'EDIT-B®.

Le Istruzioni per l'uso (IFU) del test EDIT-B® sono destinate ai professionisti che eseguiranno il test.

EDIT-B® è destinato ad essere utilizzato con un dispositivo di estrazione automatica dell'RNA PAXgene®, seguito da un processo manuale fino alla fase di sequenziamento.

Reagente

EDIT-B® deve essere utilizzato con determinati reagenti elencati nella tabella sottostante secondo i seguenti criteri:

- Riferimento critico: il riferimento è obbligatorio nel protocollo EDIT-B®.
- Riferimento non critico: il riferimento non è obbligatorio nel protocollo EDIT-B®. È possibile utilizzare un altro riferimento di un altro produttore.

*Table 1 - Elenco dei reagenti da utilizzare per **EDIT-B®***

Function		Product name	Reference	CE/RUO	Manufacturer
Sample Extraction	Blood collection	Tubes PAXgene Blood ARN-2,5ml-16x100mm-CE/IVD-100	762165	CE	PreAnalytiX
	Tube preparation	DPBS	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
	Automated RNA PAXgene extraction Kit	RNA PAXgene extraction kit of QIAsymphony SP instrument / QIAsymphony® PAXgene Blood RNA kit	762635	RUO	QIAGEN
		RNA PAXgene extraction kit of MagNA Pure 96 Instrument / MagNA Pure 96 Cellular RNA Large Volume Kit	05467535001	RUO	ROCHE
	QC RNA	RNA Reagent Kit corresponding to the Automated eclectrophresis (5 ng/µl sensitivity)	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
Library preparation process	Reverse transcription	Prime Script Reagent kit 200rxns Tak	RR037A	RUO	Takara
	Amplification Target (PCR1)	Q5® Hot Start High-Fidelity 2X	M0494S	RUO	NEB
	Purification of PCR1 pool	magnetic beads - CleanPCR - 50ML	CPCR0050	RUO	Cleanna
		Ethanol absolut	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
	Index samples (PCR2)	Q5® Hot Start High-Fidelity 2X	M0494S	RUO	NEB
		Nextera XT Index Kit v2 Set A (96 indexes, 384 samples)	FC-131-2001 / 15052163	RUO	ILLUMINA
	Purification of library	magnetic beads - CleanPCR - 50ML	CPCR0050	RUO	Cleanna
		Ethanol absolu	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
	QC library	Qubit® dsDNA BR Assay kit	Q32853	RUO	Thermo Fisher
		DNA Reagent Kit corresponding to the Automated eclectrophresis (analysis under DNA 1000 pb)	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
	Library preparation	NaOH 10N	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
		Nextseq Phix control Kit	15041963 / FC-110-3002	RUO	ILLUMINA
		Tris HCl pH=7,0	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
	Sequencing Nextseq	NextSeq 500/550 Mid Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	15057939	RUO	ILLUMINA
		Nextseq 500/550 Mid Output Reagent Cartridge V2 (150 cycles)	15057940	RUO	ILLUMINA
		Buffer v2 Nextseq 500/550	15057941	RUO	ILLUMINA
		Nextseq Accessory Box V2	15058251	RUO	ILLUMINA
		Nextseq 500/550 Mid output flowcell cartridge V2.5	20022409	RUO	ILLUMINA
		Tween 20	Non critical reference	RUO	Non critical Manufacturer
	Primers	Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - ZNF 267_F2 / ZNF267_R1	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - PTPRC_F4 / PTPRC_R4	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - IL17RA_F1 / IL17RA_R1	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - LYN_F1 / LYN_R1	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - GAB2_F1 / GAB2_R2	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - MDM2_F5 / MDM2_R5	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed, lyophilized primers, HPSF-purified, 0.05 µmol synthesis scale; identity QC by MALDI-TOF MS - PRKCB_F1 / PRKCB_R2	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*
		Custom-designed lyophilized primers , HPSF-purified, 0,05 µmol syntheis scale; indentity QC by MALDI-TOF MS -IFNAR1_F1 / IFNAR1_R1	Non critical reference	NA	Non critical Manufacturer (the primer sequences are provided by Alcediag)*

** Nota: per i primer, il fabbricante non è un criterio determinante, in quanto le sequenze sono specificate da Alcediag e fornite nel Manuale EDIT-B®*

Materiale

*Table 2 - Elenco dei materiali da utilizzare per **EDIT-B®***

Device & Function	Name	Reference	Supplier
Paxgene centrifuge & Plate centrifuge	Non critical material	Non critical reference	Non critical supplier
Automated RNA PAXgene device (RNA Extraction)	MagNA Pure 96 Instrument	06541089001	ROCHE
	QIAsymphony SP instrument	9001297	QIAGEN
Automated Electrophoresis device (RNA & DNA QC)	Non critical material *(e.g. Agilent 2100 bioanalyzer / Agilent TapeStation / Revvity Labchip)*	Non critical reference	Non critical supplier
Sequencing device	ILLUMINA NEXTSEQ 500/550	ILLUMINA	ILLUMINA
Thermocycler (PCR) / *the same reference material needs to be used for all PCR*	Non critical material	Non critical reference	Non critical supplier
DNA Quantification device	QUBIT INVITROGEN	2286613612	Invitrogen
Purification device	Magnetic plate	MYMAG-96	MAGBIOGENOMICS

Il protocollo EDIT-B® è descritto nel manuale d'uso di EDIT-B® disponibile sulla piattaforma EDIT-B® (http://edit-b.alcediag-alcen.com/).

9. Piattaforma EDIT-B®

L'accesso alla piattaforma EDIT-B® è fornito ai laboratori accreditati da Alcediag per l'utilizzo del test EDIT-B®.

10. Risultati del test EDIT-B®

Al termine dell'analisi EDIT-B®, un rapporto medico composto dai risultati forniti dal software viene fornito al laboratorio di biologia medica tramite la piattaforma EDIT-B®. Quest'ultimo convaliderà il rapporto e lo invierà al medico che ha effettuato la prescrizione.

Regole decisionali per i risultati del test EDIT-B®

L'algoritmo del test EDIT-B® restituisce una probabilità di avere un profilo bipolare compreso tra 0 e 1. La soglia di classificazione, chiamata anche soglia decisionale nell'algoritmo EDIT-B®, ci consente di abbinare l'output dell'algoritmo EDIT-B® a una categoria qualitativa (Unipolare/Bipolare). Questa soglia decisionale è stata selezionata in modo da avere una sensibilità, una specificità e una precisione superiori all'80%. Utilizzando questi criteri, la soglia decisionale dell'algoritmo EDIT-B® è stata fissata a 0,5 per definire l'algoritmo EDIT-B® come qualitativo (un paziente ha un profilo bipolare quando il punteggio EDIT-B® è ≥ 0,5 e un profilo unipolare quando è < 0,5).

Pertanto, i risultati sono presentati come risultati qualitativi (bipolare/unipolare).

Tabella 3 – Presentazione dei risultati EDIT-B®

Risultati	Punteggio dell'algoritmo	Descrizione
Bipolare	≥ 0,5	Il profilo di editing dell'RNA misurato da EDIT-B® corrisponde al profilo di un paziente bipolare.
Unipolare	< 0,5	Il profilo di editing dell'RNA misurato da EDIT-B® corrisponde a un profilo di paziente unipolare.
Nessun risultato	Non interpretabile	I requisiti per l'esecuzione del test EDIT-B® non sono soddisfatti.

Controllo senza matrice NTC (No Template Control)

EDIT-B® deve essere utilizzato con un controllo senza matrice (NTC), ovvero con acqua in un processo di controllo qualità. Il controllo della qualità con l'acqua consente di rilevare potenziali contaminazioni o amplificazioni non specifiche nella cella a flusso da analizzare. Se il numero di letture è anormalmente alto, contattare il supporto tecnico ALCEDIAG.

Specifiche del test EDIT-B®

Per fornire con successo un rapporto di aiuto diagnostico, il test EDIT-B® deve soddisfare diversi criteri e specifiche di qualità. Questi criteri sono descritti nella tabella seguente:

Controllo qualità	Descrizione	Requisiti minimi
Profondità di sequenziamento	La copertura per biomarcatore dopo il filtraggio e la mappatura deve essere superiore al requisito minimo.	10.000 letture
Controllo qualità del sequenziamento	La qualità media dei biomarcatori deve essere superiore al requisito minimo.	Punteggio Phred=30
Qualità dell'allineamento	La qualità media dell'allineamento dei biomarcatori deve essere superiore al requisito minimo.	MAPQ=30

11. Performance del test EDIT-B®

Performance cliniche

I risultati delle performance cliniche del test **EDIT-B®** condotto in uno studio multicentrico indipendente sono presentati nella tabella qui di seguito.

Tipo di campione: sangue intero raccolto con le provette PAXgene® Blood RNA

Metodologia di valutazione delle prestazioni cliniche del dispositivo EDIT-B

La valutazione delle prestazioni cliniche del dispositivo EDIT-B è stata condotta su una popolazione totale di 339 pazienti, suddivisi in due coorti. La prima, coorte di sviluppo interno (n = 245; 155 MDD e 90 BD; CHRU Montpellier, Francia), è stata suddivisa in set di addestramento (n = 147) e di validazione interna (n = 98) secondo un rapporto 6:4. La seconda, coorte di validazione esterna multicentrica indipendente (n = 94 pazienti; 66 MDD e 28 BD; Cliniques Les Toises), è stata reclutata all'interno di quattro centri psichiatrici in Svizzera (Losanna, Friburgo, Sion e Yverdon).

L'inclusione si è basata sui seguenti criteri: pazienti adulti (≥ 18 anni), aventi sottoscritto un consenso informato, idonei a eseguire le valutazioni cliniche e con una diagnosi principale di episodio depressivo maggiore e/o disturbo bipolare secondo i criteri del DSM-5. Sono stati inclusi solo i pazienti che presentavano una depressione da moderata a grave (punteggio MADRS ≥ 20 e/o IDS-C30 ≥ 24). Sono stati applicati anche altri criteri di esclusione: pazienti eutimici, pazienti con disturbo maniacale (YMRS ≥ 12), altri disturbi psichiatrici, o coloro che non soddisfacevano i criteri di qualità tecnica o per mancanza di informazioni cliniche. Per garantire la comparabilità dei gruppi, i pazienti sono stati appaiati per sesso, età, indice di massa corporea (IMC), dipendenze da sostanze e gravità della depressione, non rivelando alcuna differenza statistica significativa tra le popolazioni.

Tutti i prelievi biologici sono stati effettuati e trattati conformemente al protocollo biologico dettagliato nel presente manuale, includendo la raccolta di due campioni di sangue totale in provette PAXgene™ per consentire l'estrazione dell'RNA totale e la misurazione dell'editing dell'RNA. Il trattamento dei campioni è stato eseguito tramite una pipeline bioinformatica completamente riproducibile, automatizzata, parallelizzata e specializzata nell'analisi e nella quantificazione degli eventi di editing da adenosina a inosina (A-to-I). Questa pipeline integra rigorose fasi di pre-elaborazione, controllo qualità e allineamento su sequenza di riferimento per garantire la precisione della misurazione dei tassi di editing.

La prestazione clinica del test EDIT-B si basa su un algoritmo di apprendimento automatico che utilizza il metodo *Extra-Trees* (ET) [62]. Per prevenire qualsiasi bias, il modello integra variabili cliniche (età, sesso, dipendenze e trattamenti psichiatrici) nonché una firma biologica che misura l'editing dell'RNA su otto geni target: *GAB2*, *IFNAR1*, *IL17RA*, *LYN*, *MDM2*, *PRKCB*, *PTPRC* e *ZNF267*. Il modello è stato completamente bloccato (variabili, iperparametri, pre-elaborazione e soglia di decisione) prima dell'analisi della coorte esterna, escludendo così qualsiasi riaddestramento o ottimizzazione a posteriori. Le prestazioni sono state quantificate tramite metriche standardizzate: l'area sotto la curva ROC (AUC ROC), la sensibilità (Se), la specificità (Sp), l'accuratezza (Acc), nonché i valori predittivi positivi (PPV) e negativi (NPV). [63]

Risultati della valutazione delle prestazioni cliniche del dispositivo EDIT-B

Performance cliniche	Risultati*
Dimensione della popolazione totale Di cui: • 38,3% Uomini / 61,7% Donne • 70,2% Unipolari / 29,8% Bipolari	94
Sensibilità (%)	85,7
Specificità (%)	81,8
Tasso di falsi positivi (%)	18,2
Tasso di falsi negativi (%)	14,3
Valore predittivo positivo (%)	66,7
Valore predittivo negativo (%)	93,1
Precisione clinica (%)	83,0
AUC	0.887

**Risultati dello studio clinico di replicazione/convalida condotto con i centri psichiatrici svizzeri, Les Toises*

Performance analitiche

Sono stati condotti studi per determinare le performance analitiche del test EDIT-B®.

Tipo di campione: sangue intero raccolto con provette PAXgene® Blood RNA, IQC (Controllo di qualità interno)

Metodologie, condizioni e criteri di accettazione degli studi sulle prestazioni analitiche

Prestazioni analitiche	Metodo di riferimento	Descrizione	Condizione	Criteri di accettazione
Precisione intra-saggio / Ripetibilità	Linea guida CLSI EP05-A3	Punteggio di classificazione EDIT-B® misurato su 3 campioni, ciascuno replicato 22 volte all'interno dello stesso run (variabilità intra-run).	1 sistema strumentale (NextSeq 500/550) / stessi lotti di reagenti / 1 run / 1 operatore per run	CV < 20%
Precisione intermedia / Riproducibilità	Linea guida CLSI EP05-A3	Punteggio di classificazione EDIT-B® misurato su 3 campioni, ciascuno replicato 22 volte, processati e sequenziati in 3 run diversi (variabilità inter-run / da un giorno all'altro).	1 sistema strumentale (NextSeq 500/550) / stessi lotti di reagenti / 3 run (3 periodi) / 3 operatori	CV < 20%
Limite del Bianco (LoB) – Limite di Rilevabilità (LoD)	Linea guida CLSI EP17-A2	Valutazione del tasso di editing dei biomarcatori su un controllo qualità interno sintetico non editato (CIQNE): 16 repliche per flow cell × 3 flow cell (n = 48). Determinazione di LoB e LoD.	1 sistema strumentale (NextSeq 500/550) / stessi lotti di reagenti / 3 periodi (3 giorni) / 3 operatori (1 operatore per workflow)	LoB ≤ 0,06% di editing per tutte le varianti LoD ≤ 0,1% di editing per tutte le varianti
Specificità (contaminazione crociata)	Linea guida CLSI EP05-A3	Percentuale di pozzetti contaminati: pozzetti di IQC editato (N = 40) e di IQC non editato (N = 46) disposti a scacchiera (1 flow cell, 96 pozzetti). Un pozzetto CIQNE è considerato potenzialmente contaminato quando la percentuale di editing dei biomarcatori artificiali è superiore al LoD; conteggio per bersaglio/biomarcatore e poi per replica.	1 sistema strumentale (NextSeq 500/550) / 1 lotto di reagenti / 1 giorno / 1 operatore	EDIT-B® non deve essere sensibile a eventi di contaminazione crociata e/o carryover. Lo stato dei campioni non deve cambiare quando vengono valutati eventi di contaminazione crociata e carryover. Specifica: < 5% di pozzetti di IQC non editato contaminati

Prestazioni analitiche	Metodo di riferimento	Descrizione	Condizione	Criteri di accettazione
Specificità (reattività crociata)	Analisi in silico	Valutazione in silico della specificità: allineamento delle coppie di primer PCR1 di **EDIT-B®** (8 bersagli) e degli ampliconi associati rispetto al genoma umano.	NA	I primer utilizzati per **EDIT-B®** non devono avere reattività crociata con sequenze umane non bersaglio. La reattività crociata in silico è definita da un'omologia > 80% tra un primer e qualsiasi sequenza non bersaglio. Specifica: ≤ 80% di omologia con sequenze umane non bersaglio
Accuratezza (veridicità / bias)	Linea guida CLSI EP09	Valutazione del bias di misura su IQC con tassi di editing noti: 40 repliche (80 punti dati), su biomarcatori artificiali che mimano siti, isoforme e forme non editate; 6 repliche di IQC non editato (CIQNE) per valutare il rumore di segnale e la contaminazione.	1 sistema strumentale (NextSeq 500/550) / 1 lotto di reagenti / 1 giorno / 1 operatore	Bias globale (%) del tasso di editing ≤ 30%
Sostanze interferenti	Linee guida CLSI EP07-A3 ed EP37-A1	Valutazione del punteggio di probabilità su pool di sangue intero PAXgene (2 pool di 10 donatori sani, EFS) addizionati con / senza (controllo solvente) potenziali sostanze interferenti alle concentrazioni nel caso peggiore: bilirubina non coniugata 0,4 mg/mL (ittero); emoglobina umana 10 mg/mL (emolisi) + trigliceridi 15 mg/mL (lipemia), testate in combinazione; proteinasi K 3× la concentrazione sperimentale (12%, esogena). 6 repliche per pool e per condizione (72 pozzetti).	1 sistema strumentale (NextSeq 500/550) / 1 lotto di reagenti / 1 giorno / 1 flow cell / 1 operatore	Una sostanza è considerata interferente quando la differenza tra i punteggi di probabilità medi dei campioni testati e dei controlli è superiore alla variabilità intrinseca dei controlli (intervallo di confidenza al 95%, 1,96 × SD/SE).

Risultati e conclusioni degli studi sulle prestazioni analitiche

Prestazioni analitiche	Risultati	Conclusione
Precisione intra-saggio / Ripetibilità	Ripetibilità intra-run media = 16,5 CV% (0,07 SD) sul punteggio restituito dall'algoritmo **EDIT-B®**.	Validato (CV% medio < 20%, conforme alla Requisiti di input per la progettazio)
Precisione intermedia / Riproducibilità	Riproducibilità inter-run media = 10,3 CV% (0,05 SD) sul punteggio restituito dall'algoritmo **EDIT-B®**.	Validato (CV% medio < 20%, conforme alla Requisiti di input per la progettazio)
Limite del Bianco (LoB) – Limite di Rilevabilità (LoD)	Limite del Bianco (LoB) = 0,06% di editing / Limite di Rilevabilità (LoD) = 0,09% di editing	Validato (conforme alla Requisiti di input per la progettazio)
Specificità (contaminazione crociata)	Contaminazione crociata = 4,4% di pozzetti contaminati (< 5%)	Validato (conforme alla Requisiti di input per la progettazio)
Specificità (reattività crociata)	I primer **EDIT-B®** si allineano solo sulle regioni bersaglio attese (100% di omologia con i bersagli previsti); gli ampliconi associati non sono simili a nessun'altra sequenza umana. Nessuna amplificazione aspecifica prevista alla fase PCR1.	Validato (conforme alla Requisiti di input per la progettazio)
Accuratezza (veridicità / bias)	Bias globale = 14,9% (± 4,8 SD) (% di editing)	Validato (conforme alla Requisiti di input per la progettazio)
Sostanze interferenti	Nessuna interferenza osservata: per le 3 condizioni (bilirubina; emoglobina + trigliceridi; proteinasi K) e per entrambi i pool, la differenza tra le medie dei controlli e dei campioni addizionati è inferiore alla variabilità dei controlli.	Validato (conforme alla Requisiti di input per la progettazio)

Risultati degli studi sulle prestazioni analitiche

Performance analitiche	Risultati
Precisione - Ripetibilità intra-run per n = 3 run, CV% (DS) sul punteggio restituito dall'algoritmo **EDIT-B®**	16,5% CV (o 0,07 DS)
Precisione - Riproducibilità inter-run per n = 3 run, CV% (DS) sul punteggio restituito dall'algoritmo **EDIT-B®**	10,3% CV (o 0,05 DS)
Precisione (bias) (modifica in % (±DS))	14,9% (±4,8) di bias medio
Limite di bianco (LoB) (modifica in %)	0,06%
Limite di rilevamento (LoD) (modifica in %)	0,09%
Contaminazione crociata (% di pozzetti contaminati)	4,4%
Reattività dei primer EDIT-B® (% di specificità)	100%
Interferenze endogene ed esogene note, reazioni crociate	Non sono state osservate differenze statistiche significative tra le condizioni di prova e le condizioni di riferimento per le sostanze testate (Bilirubina, Emoglobina, Trigliceridi e Proteinasi K)

12. Contatti

Per ottenere assistenza tecnica, contattare il supporto tecnico ALCEDIAG tramite:

- Il sito Web: https://www.alcediag-alcen.com/contact/
- L'e-mail: support.edit-b@alcediag-alcen.com

13. Simboli

Fabbricante: ALCEDIAG, 1682 RUE DE LA VALSIERE, 34790 GRABELS, FRANCIA	
Conforme ai requisiti della direttiva 98/79/CE	
Dispositivo medico diagnostico IVD	
Riferimento catalogo: 0100	
Consultare le istruzioni per l'uso	

14. Abbreviazioni

ATC: *Sistema di Classificazione Anatomico Terapeutico Chimica*
BDI: *Inventario della depressione di Beck*
DSM-5: *Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali, Quinta Edizione*
EN: *inglese*
FASTQ: formato testuale per la memorizzazione di una sequenza biologica e dei relativi punteggi di qualità.
GDPR: *Regolamento generale sulla protezione dei dati*
HDRS: *Scala di valutazione della depressione di Hamilton*
ICD-11: *Classificazione internazionale delle malattie, undicesima revisione*
IFU: Istruzioni per l'uso
IT: *Italiano*
IVD: *Dispositivo diagnostico in vitro*
MADRS: *Scala di valutazione della depressione di Montgomery-Åsberg*
MAPQ: *MAPping Quality*
NTC: *No Template Control (controllo senza matrice)*
Phred: *Punteggio di qualità per misurare la qualità dell'identificazione delle nucleobasi sequenziate*
RNA: *Acido RiboNucleico*

15. Riferimenti bibliografici

1. Vismara, M., et al., Peripheral Biomarkers in DSM-5 Anxiety Disorders: An Updated Overview. Brain Sci, 2020. **10**(8).
2. Jentsch, M.C., et al., Biomarker approaches in major depressive disorder evaluated in the context of current hypotheses. Biomark Med, 2015. **9**(3): p. 277-97.
3. Lin, E. and S.J. Tsai, Epigenetics and Depression: An Update. Psychiatry Investig, 2019. **16**(9): p. 654-661.
4. Garcia-Gimenez, J.L., et al., Epigenetic biomarkers: Current strategies and future challenges for their use in the clinical laboratory. Crit Rev Clin Lab Sci, 2017. **54**(7-8): p. 529-550.
5. Gatsiou, A., et al., Adenosine-to-Inosine RNA Editing in Health and Disease. Antioxid Redox Signal, 2018. **29**(9): p. 846-863.
6. Wang, Q., et al., RNA Editing, ADAR1, and the Innate Immune Response. Genes (Basel), 2017. **8**(1).
7. Morabito, M.V. and R.B. Emeson, RNA editing as a therapeutic target for CNS disorders. Neuropsychopharmacology, 2009. **34**(1): p. 246.
8. Jeon, S.W. and Y.K. Kim, Inflammation-induced depression: Its pathophysiology and therapeutic implications. J Neuroimmunol, 2017. **313**: p. 92-98.
9. Asnis, G.M., et al., IFN-induced depression: a role for NSAIDs. Psychopharmacol Bull, 2003. **37**(3): p. 29-50.
10. Dowlati, Y., et al., A meta-analysis of cytokines in major depression. Biol Psychiatry, 2010. **67**(5): p. 446-57.
11. Liu, H., et al., Tumor-derived IFN triggers chronic pathway agonism and sensitivity to ADAR loss. Nat Med, 2019. **25**(1): p. 95-102.
12. Rifai, M.A. and M.A. Sabouni, Utilizing genomic polymorphisms to personalize hepatitis C therapies. Curr Opin Organ Transplant, 2012. **17**(2): p. 198-203.
13. Yoshida, K., et al., Promoter polymorphisms of the interferon-alpha receptor gene and development of Interferon-induced depressive symptoms in patients with chronic hepatitis C: preliminary findings. Neuropsychobiology, 2005. **52**(2): p. 55-61.
14. Avila, M., et al., Lyn kinase controls TLR4-dependent IKK and MAPK activation modulating the activity of TRAF-6/TAK-1 protein complex in mast cells. Innate Immun, 2012. **18**(4): p. 648-60.
15. O'Neill, M.J., et al., AMPA receptor potentiators for the treatment of CNS disorders. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord, 2004. **3**(3): p. 181-94.
16. Zhang, S.F., et al., Comparison of cognitive impairments with lipid profiles and inflammatory biomarkers in unipolar and bipolar depression. J Psychiatr Res, 2022. **150**: p. 300-306.
17. Wang, H., et al., GAB2 regulates type 2 T helper cell differentiation in humans. Cytokine, 2017. **96**: p. 234-237.
18. Reiman, E.M., et al., GAB2 alleles modify Alzheimer's risk in APOE epsilon4 carriers. Neuron, 2007. **54**(5): p. 713-20.
19. Hu, Y., et al., GAB2 rs2373115 variant contributes to Alzheimer's disease risk specifically in European population. J Neurol Sci, 2017. **375**: p. 18-22.
20. Zhu, Z., et al., Increased expression of PRKCB mRNA in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. Ann Hum Genet, 2018. **82**(4): p. 200-205.
21. Guo, X., et al., Down-regulation of PRKCB1 expression in Han Chinese patients with subsyndromal symptomatic depression. J Psychiatr Res, 2015. **69**: p. 1-6.
22. Costas, J., et al., Association study of 44 candidate genes with depressive and anxiety symptoms in post-partum women. J Psychiatr Res, 2010. **44**(11): p. 717-24.
23. Jacobsen, M., et al., A point mutation in PTPRC is associated with the development of multiple sclerosis. Nat Genet, 2000. **26**(4): p. 495-9.
24. Colledge, M., et al., Ubiquitination regulates PSD-95 degradation and AMPA receptor surface expression. Neuron, 2003. **40**(3): p. 595-607.
25. Brown, V.K., et al., Multiple components of the B cell antigen receptor complex associate with the protein tyrosine phosphatase, CD45. J Biol Chem, 1994. **269**(25): p. 17238-44.
26. Tan, J., T. Town, and M. Mullan, CD45 inhibits CD40L-induced microglial activation via negative regulation of the Src/p44/42 MAPK pathway. J Biol Chem, 2000. **275**(47): p. 37224-31.
27. Aw, E., Y. Zhang, and M. Carroll, Microglial responses to peripheral type 1 interferon. J Neuroinflammation, 2020. **17**(1): p. 340.
28. Basterzi, A.D., et al., Effects of venlafaxine and fluoxetine on lymphocyte subsets in patients with major depressive disorder: a flow cytometric analysis. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2010. **34**(1): p. 70-5.
29. Yao, Z., et al., Molecular characterization of the human interleukin (IL)-17 receptor. Cytokine, 1997. **9**(11): p. 794-800.
30. Beurel, E., L.E. Harrington, and R.S. Jope, Inflammatory T helper 17 cells promote depression-like behavior in mice. Biol Psychiatry, 2013. **73**(7): p. 622-30.
31. Slyepchenko, A., et al., T helper 17 cells may drive neuroprogression in major depressive disorder: Proposal of an integrative model. Neurosci Biobehav Rev, 2016. **64**: p. 83-100.
32. Rouillard, A.D., et al., The harmonizome: a collection of processed datasets gathered to serve and mine knowledge about genes and proteins. Database (Oxford), 2016. **2016**.
33. Chen, Y., et al., Emerging tendency towards autoimmune process in major depressive patients: a novel insight from Th17 cells. Psychiatry Res, 2011. **188**(2): p. 224-30.
34. Yang, H., et al., Knockdown of zinc finger protein 267 suppresses diffuse large B-cell lymphoma progression, metastasis, and cancer stem cell properties. Bioengineered, 2022. **13**(1): p. 1686-1701.
35. Schnabl, B., et al., Increased expression of zinc finger protein 267 in non-alcoholic fatty liver disease. Int J Clin Exp

*Pathol, 2011. **4**(7): p. 661-6.*
*36. Schnabl, B., et al., Zinc finger protein 267 is up-regulated during the activation process of human hepatic stellate cells and functions as a negative transcriptional regulator of MMP-10. Biochem Biophys Res Commun, 2005. **335**(1): p. 87-96.*
*37. Schnabl, B., et al., Zinc finger protein 267 is up-regulated in hepatocellular carcinoma and promotes tumor cell proliferation and migration. Exp Mol Pathol, 2011. **91**(3): p. 695-701.*
*38. Patel, S., et al., Characterization of Human Genes Modulated by Porphyromonas gingivalis Highlights the Ribosome, Hypothalamus, and Cholinergic Neurons. Front Immunol, 2021. **12**: p. 646259.*
39. Bahado-Singh, R.O., et al., Artificial intelligence and placental DNA methylation: newborn prediction and molecular mechanisms of autism in preterm children. J Matern Fetal Neonatal Med, 2021: p. 1-10.
*40. Hirschfeld, R.M., et al., Screening for bipolar disorder in patients treated for depression in a family medicine clinic. J Am Board Fam Pract, 2005. **18**(4): p. 233-9.*
*41. Fried, E.I., The 52 symptoms of major depression: Lack of content overlap among seven common depression scales. J Affect Disord, 2017. **208**: p. 191-197.*
*42. Salvetat, N., et al., A game changer for bipolar disorder diagnosis using RNA editing-based biomarkers. Transl Psychiatry, 2022. **12**(1): p. 182.*
*43. Schwarz, E., et al., Identification of a blood-based biological signature in subjects with psychiatric disorders prior to clinical manifestation. World J Biol Psychiatry, 2012. **13**(8): p. 627-32.*
*44. Ren, J., et al., Identification of plasma biomarkers for distinguishing bipolar depression from major depressive disorder by iTRAQ-coupled LC-MS/MS and bioinformatics analysis. Psychoneuroendocrinology, 2017. **86**: p. 17-24.*
*45. Kittel-Schneider, S., et al., Proteomic Profiling as a Diagnostic Biomarker for Discriminating Between Bipolar and Unipolar Depression. Front Psychiatry, 2020. **11**: p. 189.*
*46. Bai, Y.M., et al., A comparison study of metabolic profiles, immunity, and brain gray matter volumes between patients with bipolar disorder and depressive disorder. J Neuroinflammation, 2020. **17**(1): p. 42.*
*47. Sayana, P., et al., A systematic review of evidence for the role of inflammatory biomarkers in bipolar patients. J Psychiatr Res, 2017. **92**: p. 160-182.*
*48. Wollenhaupt-Aguiar, B., et al., Differential biomarker signatures in unipolar and bipolar depression: A machine learning approach. Aust N Z J Psychiatry, 2020. **54**(4): p. 393-401.*
*49. Rajagopalan, A., et al., Digital Platforms in the Assessment and Monitoring of Patients with Bipolar Disorder. Brain Sci, 2017. **7**(11).*
*50. Stanislaus, S., et al., Smartphone-based activity measurements in patients with newly diagnosed bipolar disorder, unaffected relatives and control individuals. Int J Bipolar Disord, 2020. **8**(1): p. 32.*
*51. Dargel, A.A., et al., Toi Meme, a Mobile Health Platform for Measuring Bipolar Illness Activity: Protocol for a Feasibility Study. JMIR Res Protoc, 2020. **9**(8): p. e18818.*
*52. Frye, M.A., et al., Feasibility of investigating differential proteomic expression in depression: implications for biomarker development in mood disorders. Transl Psychiatry, 2015. **5**: p. e689.*
*53. Nurnberger, J.I., Jr., et al., Identification of pathways for bipolar disorder: a meta-analysis. JAMA Psychiatry, 2014. **71**(6): p. 657-64.*
*54. Kato, T., Whole genome/exome sequencing in mood and psychotic disorders. Psychiatry Clin Neurosci, 2015. **69**(2): p. 65-76.*
*55. Gatt, J.M., et al., Specific and common genes implicated across major mental disorders: a review of meta-analysis studies. J Psychiatr Res, 2015. **60**: p. 1-13.*
*56. Lee, S.Y., et al., Serum miRNA as a possible biomarker in the diagnosis of bipolar II disorder. Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 1131.*
*57. Wang, Z., et al., MiRNA-206 and BDNF genes interacted in bipolar I disorder. J Affect Disord, 2014. **162**: p. 116-9.*
*58. Liebers, D.T., et al., Discriminating bipolar depression from major depressive disorder with polygenic risk scores. Psychol Med, 2021. **51**(9): p. 1451-1458.*
*59. Polyakova, M., et al., BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: a systematic & quantitative meta-analysis. J Affect Disord, 2015. **174**: p. 432-40.*
*60. Idemoto, K., et al., Platelet-derived growth factor BB: A potential diagnostic blood biomarker for differentiating bipolar disorder from major depressive disorder. J Psychiatr Res, 2021. **134**: p. 48-56.*
*61. Stamm, S., et al., The activity of the serotonin receptor 2C is regulated by alternative splicing. Hum Genet, 2017. **136**(9): p. 1079-1091.*
62. Geurts P, Ernst D, Wehenkel L. Extremely randomized trees. Mach Learn. 2006;63:3–42. doi: 10.1007/s10994-006-6226-1
63. Salvetat N, Checa-Robles FJ, Delacrétaz A, et al. AI algorithm combined with RNA editing-based blood biomarkers to discriminate bipolar from major depressive disorders in an external validation multicentric cohort. Journal of Affective Disorders. 2024;356:385–93. doi: 10.1016/j.jad.2024.04.022

Fine del documento