

Approfondimenti essenziali: Nuovi controlli FDA sui Test Sviluppati in Laboratorio (LDTs)



Riepilogo

La FDA sta rafforzando i controlli sui "Test Sviluppati in Laboratorio" (LDTs) impiegati per la Diagnostica in Vitro in ambito clinico.

In Europa, sono in corso modifiche normative, attraverso recenti emendamenti relativi ai test "in-house", al Regolamento sui Dispositivi Medici (MDR) e al Regolamento sui Dispositivi Diagnostici in Vitro (IVDR). Negli Stati Uniti e in Europa è richiesta una Gestione della Qualità in linea con lo standard ISO 13485 per i dispositivi medici.

L'acqua purificata è una componente comunemente utilizzata in molti LDT ed è soggetta ai nuovi controlli. L'utilizzo di un sistema di purificazione dell'acqua di alta qualità, convalidato e calibrato da un produttore affidabile, può aiutare i fornitori di LDT a soddisfare le nuove normative che entreranno in vigore.

Un'introduzione agli LDTs

La diagnostica in vitro (IVD) in ambito clinico è essenzialmente un test effettuato su campioni prelevati dai pazienti al fine di determinarne lo stato di salute. I test possono essere effettuati utilizzando auto-analizzatori altamente controllati o "Test Sviluppati in Laboratorio" (LDTs). Quelli prodotti commercialmente utilizzando auto-analizzatori costituiscono la maggior parte dei test clinici di laboratorio.

Gli LDT, tuttavia, sono progettati e sviluppati per l'uso in un singolo laboratorio, a volte definiti test "in-house". Gli LDT sono sviluppati in strutture come studi medici, ospedali e centri medici universitari fino alle grandi aziende di analisi. Sebbene gli LDT possano contenere componenti uguali o simili ai test approvati dalla FDA, devono essere sviluppati e impiegati all'interno della stessa struttura.⁽¹⁾

Per affrontare le preoccupazioni relative alla sicurezza e al controllo degli LDT, data la loro crescente prevalenza nelle decisioni sanitarie e la crescente complessità, la FDA prevede di applicare una regolamentazione più rigorosa in merito alla loro distribuzione.

Esistono numerosi controlli da parte della FDA sugli auto-analizzatori definiti come "dispositivi medici" nei regolamenti, tuttavia, la FDA prevede ora di definire LDT come "IVD fabbricati in laboratorio" e di classificarli anche come "dispositivi" ai sensi del Federal Food and Drug Cosmetic Act (FD&C Act). Di conseguenza, molte normative diventeranno applicabili anche ai fornitori di LDT.

Si prevede che le modifiche saranno implementate nell'arco di quattro anni a partire da maggio 2025.

Riepilogo delle modifiche al regolamento:

Fase 1 - Conformità da maggio 2025

Requisiti del Regolamento sui Dispositivi Medici (MDR), requisiti di segnalazione della correzione e rimozione e requisiti del Sistema di Qualità (QS) relativi ai fascicoli di reclamo

Fase 2 - Conformità entro maggio 2026:

Requisiti non coperti durante le altre fasi della politica di eliminazione graduale, inclusi i requisiti di registrazione e di inserimento nell'elenco, i requisiti di etichettatura e i requisiti per uso sperimentale

Fase 3 - Conformità a maggio 2027:

Requisiti del Sistema di Qualità (diversi dai requisiti relativi ai fascicoli di reclamo)

Fase 4 conformità entro novembre 2027:

Requisiti di revisione pre-commercializzazione per i dispositivi medici in vitro ad alto rischio offerti come LDTs (dispositivi che possono essere classificati in classe III o che sono soggetti ad autorizzazione ai sensi dell'articolo 351 del Public Health Service Act)

Fase 5 conformità entro 06/05/2028:

Requisiti di revisione pre-commercializzazione per dispositivi medici in vitro a rischio moderato e basso offerti come LDTs

(2)

L'importanza dei "Test Sviluppati in Laboratorio"

Gli LDTs sono spesso complessi e vengono sviluppati ed eseguiti da specialisti altamente qualificati (analitici e medici); si fa affidamento alla loro competenza per interpretare i risultati.

Gli LDTs offrono versatilità e possono rispondere ad esigenze cliniche attuali o locali non ancora soddisfatte, laddove lo sviluppo di metodi automatizzati non sia praticabile.

Gli LDTs sono spesso estremamente utili laddove il processo normativo della FDA ha faticato a tenere il passo con le conoscenze attuali⁽³⁾ e per promuovere l'innovazione nell'ambito della diagnostica in vitro.

Esempi di LDTs includono quelli per:

- Nuovi virus come SARS-CoV-2,
- Droghe ricreative illecite in evoluzione,
- Esposizione locale a veleni,
- Nuovi marcatori genetici che indicano il rischio di cancro.

Limitazioni

In teoria, gli LDT devono essere sviluppati ed eseguiti solo presso singoli laboratori certificati. Ciò significa che il trasferimento diretto di metodi tra diversi laboratori non dovrebbe essere consentito. Molti LDT vengono ora eseguiti su scala molto più ampia rispetto al passato, come da società di laboratori che offrono servizi a livello nazionale. I test vengono spesso svolti utilizzando strumenti e componenti illegalmente commercializzati per uso clinico. Questo è uno squilibrio che la FDA cerca di correggere.

L'approccio generale di "discrezionalità nell'applicazione" della FDA ha fatto sì che molte normative in materia di dispositivi in vitro non siano state applicate per gli LDT, consentendo loro di eludere una varietà di requisiti, tra cui quelli per i dispositivi medici, i sistemi di qualità, la revisione pre-commercializzazione e la conformità post-commercializzazione. Con la crescente complessità e prevalenza degli LDT, l'apparente mancanza di controllo da parte della FDA, rispetto agli IVD standard, ha sollevato preoccupazioni in merito alla validità, all'affidabilità e alla sicurezza, e ha portato a questi cambiamenti.

Attrezzature comunemente utilizzate

Apparecchiature e rivelatori analitici all'avanguardia, altamente specializzati e sensibili, possono essere impiegati negli LDT, come ad esempio la cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) e la spettrometria di massa a tempo di volo (TOF-MS)⁽⁴⁾. Utilizzati da personale qualificato e competente, questi metodi e queste apparecchiature complesse possono offrire strumenti particolarmente efficaci a supporto dei medici. Ciò include l'identificazione e la quantificazione ad alta risoluzione di diversi marcatori biologici come ormoni, amminoacidi, acidi grassi, proteine e peptidi, da tracce a livelli elevati in matrici complesse.

Il funzionamento di queste apparecchiature sensibili richiede attenzione e competenza; ambienti controllati, come camere bianche, e reagenti chimici altamente controllati sono spesso usati per minimizzare i potenziali contaminanti che possono compromettere i risultati e i limiti di rilevabilità. Durante lo sviluppo degli LDT vengono stabiliti parametri critici per il successo, come le sostanze chimiche adatte che vengono successivamente richieste dal metodo certificato.

Al contrario, i test IVD eseguiti da auto-analizzatori utilizzano reagenti chimici valutati dal produttore specifico, garantendo l'idoneità allo scopo, la sicurezza di fornitura, la disponibilità e la tracciabilità della documentazione che lo dimostri. I metodi e le apparecchiature analitiche sono stati sviluppati con cura in linea con i Sistemi di Gestione della Qualità (QMS) per i dispositivi medici, come la norma ISO 13485.

La conformità al QMS per i dispositivi medici rappresenta una sfida importante per i fornitori di dispositivi analitici per LDT. Ciò è necessario per garantire la necessaria fiducia nell'affidabilità delle apparecchiature analitiche, dei relativi risultati e per soddisfare la nuova posizione della FDA. La Sezione 7.4 della normativa riguarda gli acquisti conformi, come la selezione e la definizione dei componenti, dei materiali di consumo e dei prodotti chimici necessari per i test IVD.

L'acqua purificata è un reagente comunemente utilizzato per la distribuzione di molti dispositivi LDT ed è discussa nella sezione seguente.

Acqua purificata per auto-analizzatori IVD

L'acqua purificata è senza dubbio il reagente utilizzato in maggiore quantità per le analisi diagnostiche in vitro (IVD); data la sua importanza e le elevate quantità richieste, la maggior parte degli auto-analizzatori impiegati per l'IVD è dotata di apparecchiature che producono acqua ad elevata purezza e la forniscono direttamente all'analizzatore. Questo elimina il potenziale rischio di contaminazione dovuto alla manipolazione e all'ambiente.

La purezza dell'acqua per analisi cliniche è stata determinata dal Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) nel suo standard Clinical Laboratory Reagent Water (CLRW). Questa qualità si è dimostrata idonea per un funzionamento affidabile degli auto-analizzatori IVD ed è dettagliata nella tabella seguente.

Parametro	Specifiche CLRW
Resistività	> 10 MΩ.cm
TOC (Carbonio Organico Totale)	< 500 ppbC
Particolato	Filtrazione 0.22μm
Batteri	< 10 CFU/ml

La resistività indica bassi livelli di ioni disciolti (impurità inorganiche), il TOC bassi livelli di materia organica, la filtrazione rimuove il particolato in sospensione e le specifiche batteriche indicano una bassa attività microbiologica. Le apparecchiature di purificazione dell'acqua incorporano sensori che ne monitorano la purezza e sono spesso "validate" dai produttori, sia al

momento dell'installazione che periodicamente, per confermarne il corretto funzionamento e le prestazioni in situ. Il monitoraggio e i test, confrontati con lo standard riconosciuto dalla CLSI, offrono alla FDA la certezza e la tracciabilità che venga utilizzata acqua adeguata per supportare decisioni cliniche di successo.

Acqua purificata per LDT

L'acqua altamente purificata viene utilizzata in modi differenti anche nell'ambito della diagnostica in vitro (IVD) tramite LDT, tuttavia i requisiti di purezza possono essere meno definiti e rispettati. Sebbene l'acqua che corrisponde al CLRW si sia dimostrata adeguata per gli auto-analizzatori, l'elevata complessità delle apparecchiature impiegate in molti LDT richiedono un livello di purezza più elevato.

La purezza dell'acqua richiesta è spesso prossima a quella Ultrapura di Tipo 1, che presenta una resistività > 18,2 MΩ.cm (a 25 °C) e un TOC < 10 ppbC. Nell'analisi HPLC, utilizzata nelle applicazioni cliniche, esempi di linee di base compromesse sono evidenti con un TOC dell'acqua reagente di 100 ppbC, e l'esperienza indica che è possibile prevedere un degrado delle prestazioni con un aumento del TOC superiore a 5-10 ppbC⁽⁵⁾. L'importanza di un basso TOC nella cromatografia si riflette nella specifica ASTM D1193 per l'acqua reagente utilizzata per la cromatografia ionica (IC), la quale è <50 ppbC e accompagnata da una specifica sulla resistività dell'acqua >18 MΩ.cm a 25 °C.

L'acqua purificata viene utilizzata in grandi quantità in numerosi LDT, come quelli che coinvolgono la cromatografia liquida, e per questo, gli effetti della contaminazione sulle prestazioni possono essere amplificati.

Talvolta si utilizzano acque confezionate in bottiglia per applicazioni specifiche per effettuare analisi di laboratorio, tuttavia la purezza dell'acqua non può essere garantita. Sebbene possano essere forniti certificati di purezza per l'acqua in bottiglia, potrebbero non rappresentare accuratamente la qualità dell'acqua al momento dell'uso. Ciò è dovuto al potenziale rischio di contaminazione durante il periodo trascorso tra il test di qualità e l'utilizzo, nonché alla facilità con cui la contaminazione può verificarsi.

La contaminazione da impurità organiche può verificarsi tramite bottiglie di plastica o chiusure elastomeriche, mentre le bottiglie di vetro possono contribuire alla degradazione della resistività da parte degli ioni inorganici. Una volta aperte le bottiglie, un'ulteriore contaminazione può derivare da diverse fonti tra cui aria, impianti di laboratorio, contenitori per lo stoccaggio dell'acqua e attrezzature per il trasferimento, operatori e prodotti per la cura personale. I livelli di contaminazione possono aumentare nel tempo, con esposizioni multiple.

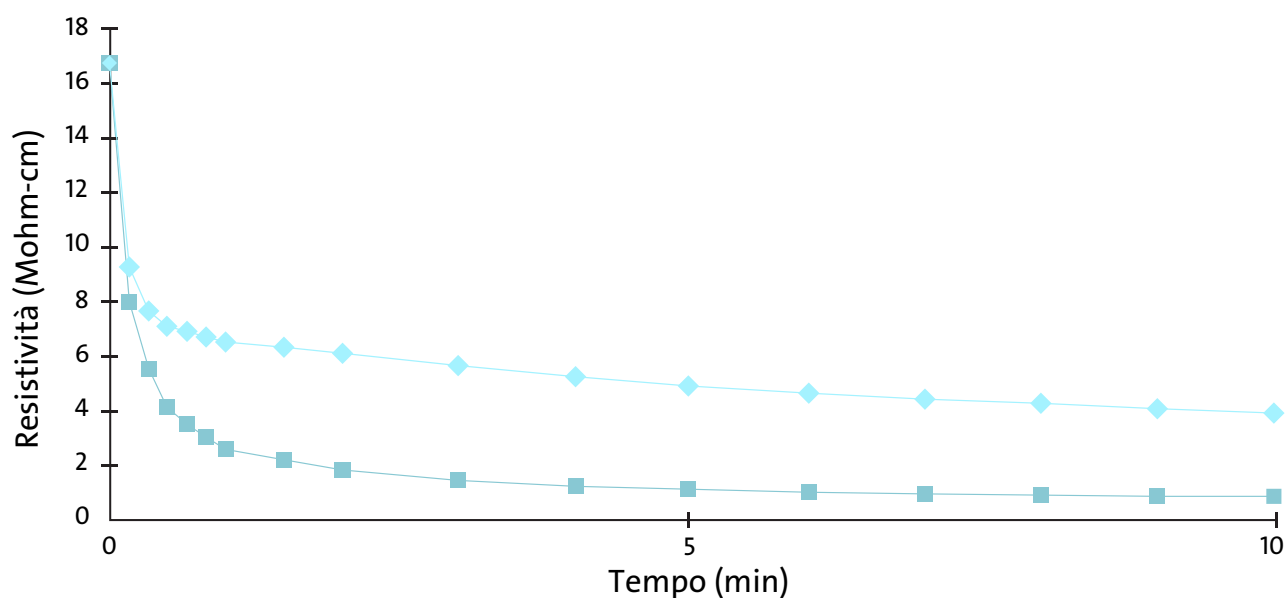
Questo limita la fiducia nella purezza dell'acqua confezionata, poiché qualsiasi test di qualità può essere eseguito molto tempo prima dell'uso e persino prima del confezionamento. L'utilizzo ripetuto della stessa acqua

confezionata comporta ulteriori rischi di deterioramento della purezza e può portare a incongruenze nelle analisi.

L'acqua ultrapura è una delle sostanze più pure utilizzate nelle analisi di laboratorio e, in quanto "solvente universale", può dissolvere quasi tutto, in determinate quantità. Una volta prodotta, è estremamente facile da contaminare, cosa che può verificarsi in modo inaspettato.

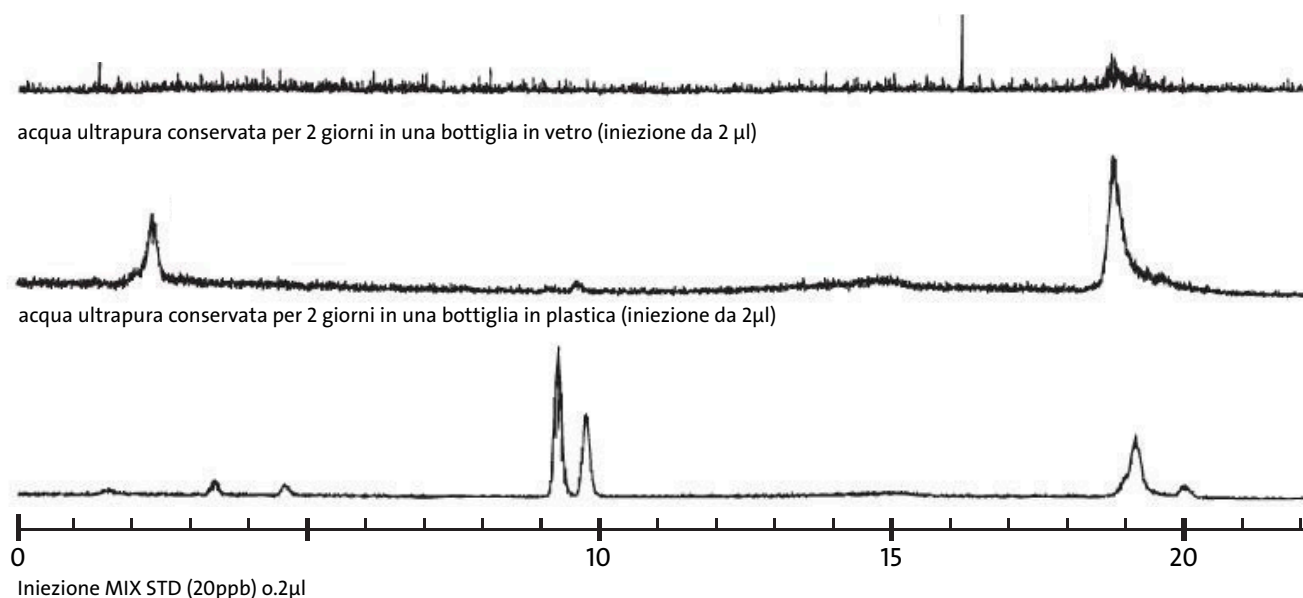
La contaminazione dell'acqua ultrapura può essere quasi istantanea, come mostrato nelle figure seguenti attraverso la diminuzione della resistività dell'acqua dovuta all'esposizione all'aria, la comparsa di picchi di impurità nelle tracce HPLC dovute alla contaminazione durante la conservazione e il rilevamento con uno spettrometro di massa (MS) di plastificanti nell'acqua ultrapura che è entrata brevemente in contatto con il PVC.

Resistività dell'acqua pura a contatto con l'aria



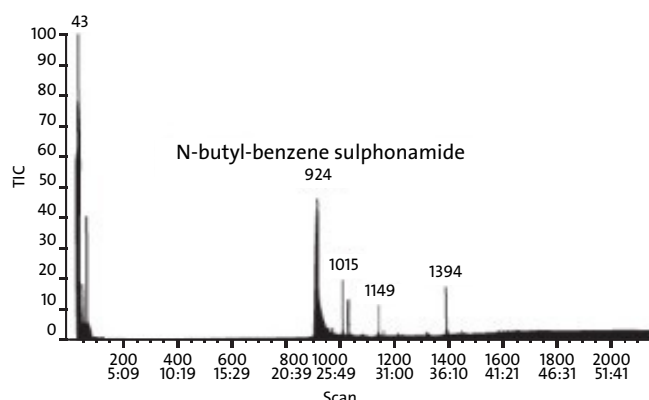
Con l'esposizione all'aria dell'acqua purificata, la resistività viene immediatamente compromessa attraverso la dissoluzione delle impurità

Contaminazione dell'acqua confezionata in bottiglia

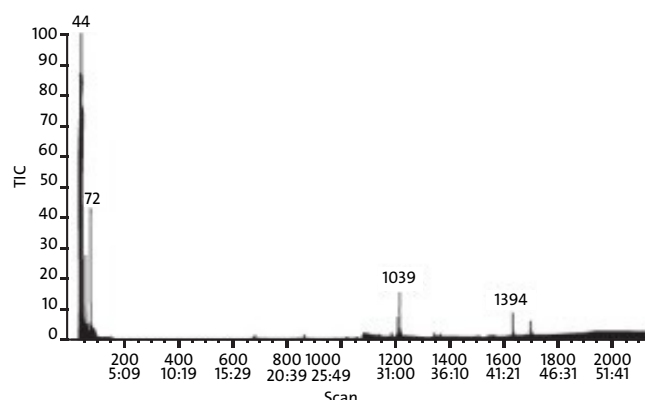


I cromatogrammi dimostrano risultati analitici compromessi a causa della conservazione di acqua ultrapura.⁽⁶⁾

Acqua ultra pura che ha attraversato 50 cm di tubo flessibile in PVC



Acqua ultrapura



Le tracce in MS mostrano chiaramente la contaminazione da plastificanti dell'acqua ultrapura attraverso un breve contatto con la plastica in PVC.

Sebbene gli effetti delle impurità dell'acqua sulle apparecchiature analitiche sopra descritti siano evidenti, questo potrebbe non essere sempre vero; un accumulo di materiale all'interno del processo, come ad esempio il particolato, può causare un graduale degrado delle prestazioni che può passare inosservato. Un produttore leader di apparecchiature HPLC-MS afferma che l'acqua ultrapura (ovvero priva di particolato, chimicamente pura, con una resistività $>18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) riduce il potenziale di accumulo di impurità⁽⁷⁾.

Pertanto, laddove la purezza dell'acqua sia fondamentale per il successo analitico, come in molti LDT sviluppati utilizzando apparecchiature altamente sensibili, l'acqua dovrebbe essere utilizzata subito dopo la sua produzione da parte del sistema di purificazione e protetta dalla contaminazione.

Dove l'acqua viene prodotta utilizzando un sistema di purificazione locale, la purezza dell'acqua può essere monitorata in tempo reale tramite sensori calibrati all'interno del flusso d'acqua. Questi possono evidenziare immediatamente variazioni impreviste nella purezza prima che possano influire sui dati dei test.

I produttori affidabili di apparecchiature per la purificazione dell'acqua di laboratorio forniscono anche pacchetti di convalida in loco per confermare il raggiungimento delle prestazioni di processo previste; questo può avvenire al momento dell'installazione e periodicamente in seguito. La calibrazione e la convalida forniscono una tracciabilità affidabile sulla purezza dell'acqua, il che contribuisce quindi alla fiducia nella costanza delle prestazioni dei LDT ed è particolarmente utile quando si dimostra la Gestione della Qualità ad enti regolatori come la FDA.

Conclusione

- Le nuove restrizioni pongono sfide per i fornitori di LDT, che potrebbero ridurre la flessibilità del servizio offerto
- Le prime fasi di attuazione delle modifiche introdotte da FDA prevedono maggiori controlli sulla Gestione della Qualità, incluso l'acquisto di reagenti e componenti utilizzati per la distribuzione di LDT.
- L'acqua purificata è un reagente fondamentale per molti test IVD, inclusi gli LDT, che saranno sottoposti ad un controllo più rigoroso attraverso i nuovi requisiti del Sistema di Gestione della Qualità (QMS).

- La qualità dell'acqua purificata per gli LDT può essere assicurata utilizzando sistemi di purificazione di alta qualità per produrre acqua secondo ogni necessità; come avviene nella maggior parte delle attività IVD con gli auto-analizzatori.
- I fornitori affidabili di apparecchiature per la purificazione dell'acqua offrono pacchetti di convalida per confermare la correttezza delle prestazioni previste delle apparecchiature in situ e la calibrazione dei sensori interni che monitorano la purezza in tempo reale; questi possono essere impiegati per dimostrare il controllo di qualità dell'acqua utilizzata per i test IVD.

Riferimenti

(1) Framework for Regulatory Oversight of Laboratory Developed Tests: Draft Guidance for Industry, Food and Drug Administration Staff, and Clinical Laboratories; Availability, 79 Fed. Reg. 59776 (Oct. 3, 2014).

(2) US FDA (2024) Available [Online] at <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/laboratory-developed-tests>

(3) ADLM Association for Diagnostics & Laboratory Medicine (2024) [Online] Available at <https://www.myadlm.org/lp/protecting-patient-access-to-tests/essential-laboratory-developed-tests>
<https://www.venable.com/insights/publications/2024/05/an-in-depth-look-at-the-final-rule-regarding>

(4) (IJSR) ISSN: 2319-7064 ResearchGate Impact Factor (2018): 0.28 | SJIF (2018): 7.426 [Online] Available at <https://www.ijsr.net/archive/v8i11/ART20202770.pdf>

(5) LCGC Europe-07-01-2005 Volume 18 Issue 7 Pages: 410–414 (2005) [Online] Available at <https://www.chromatographyonline.com/view/misunderstood-laboratory-solvent-reagent-water-hplc-0>

(6) Whitehead P (2013). Importance of ultra pure water for analytical research and testing techniques -impact of laboratory water handling and storage procedures on its purity. [Online] Available at <https://slideplayer.com/slide/6184152/>

(7) Waters Controlling Contamination in LC/MS Systems (2024) available [Online] at https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715001307d_cntrl_cntm.pdf

Resourcing the world  **VEOLIA**

Dedicated to Discovery

ELGA Labwater in Italia è:
Veolia Water Technologies Italia SpA
Via Melchiorre Gioia, 26
20124 Milano
02 91 795 001

info.elgaitalia@veolia.com

www.elgalabwater.com