

Kluczowe informacje: Nowe kontrole FDA nad testami opracowanymi w laboratoriach (LDT)



Podsumowanie

Amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA) zaostroża kontrolę nad testami opracowanymi przez laboratorium (LDT - Laboratory Developed Test) stosowanymi w diagnostyce in vitro w warunkach klinicznych.

W Europie również odbywają się prace nad zmianami w związku z niedawnymi poprawkami dotyczącymi "testów opracowanych przez laboratorium" w ramach przepisów dotyczących wyrobów medycznych (MDR) oraz diagnostyki in vitro (IVDR). Zarówno w Stanach Zjednoczonych, jak i w Europie wymagane jest prowadzenie zarządzania jakością zgodnie z normą ISO 13485 dotyczącą wyrobów medycznych.

Nowym regulacjom podlega również woda oczyszczona będąca powszechnie stosowanym składnikiem wielu testów LDT.

Zastosowanie wysokiej jakości systemu uzdatniania wody, który jest walidowany i kalibrowany przez renomowanego producenta, może pomóc dostawcom testów LDT w spełnieniu nowych wymogów, które wkrótce wejdą w życie.

Podstawowe informacje dotyczące testów LDT

Diagnostyka in vitro (ang. In Vitro Diagnostics, IVD) w warunkach klinicznych to zasadniczo testy przeprowadzane na próbkach pobranych od pacjentów w celu określenia stanu zdrowia. Mogą być wykonywane przy użyciu wysoce zautomatyzowanych analizatorów lub tzw. „testów opracowanych przez laboratorium” (LDT). Większość badań wykonywanych w laboratoriach klinicznych przeprowadza się przy pomocy komercyjnych testów wykorzystujących analizatory automatyczne.

Testy LDT są jednak zaprojektowane i opracowane do użytku w jednym laboratorium i czasami określane jako testy „wewnętrzne”. Powstają w różnych placówkach – od gabinetów lekarskich, przez szpitale i akademickie ośrodki medyczne, aż po duże firmy zajmujące się diagnostyką. Chociaż testy LDT mogą wykorzystywać te same lub podobne komponenty co testy zatwierdzone przez FDA, muszą być opracowane i stosowane w tej samej instytucji.⁽¹⁾

Aby rozwiązać obawy dotyczące bezpieczeństwa i nadzoru nad testami LDT – zwłaszcza w kontekście ich rosnącej popularności i coraz większej złożoności – FDA planuje wprowadzenie bardziej rygorystycznych przepisów dotyczących stosowania.

Obecnie FDA sprawuje kontrolę nad automatycznymi analizatorami, które są klasyfikowane jako „wyroby medyczne” zgodnie z obowiązującymi regulacjami. Teraz jednak planuje również uznać testy LDT za „IVD produkowane przez laboratoria” i objąć je definicją „wyrobów” zgodnie z federalną ustawą o żywności, lekach i kosmetykach (FD&C Act). W efekcie dostawcy LDT będą zobowiązani do spełniania szeregu dodatkowych wymogów prawnych.

Zmiany mają być wdrażane stopniowo w ciągu czterech lat, począwszy od maja 2025 roku.

Podsumowanie zmian w regulacjach:

Etap 1 – od maja 2025 r. zgodność z:

przepisami dotyczącymi zgłaszania problemów związanych z wyrobami medycznymi, wymogami dotyczącymi korekt i wycofań, wymogami systemu jakości w zakresie rejestrowania i zarządzania reklamacjami

Etap 2 – od maja 2026 r. zgodność z:

wymogami nieuwzględnionymi na innych etapach polityki wycofywania, w tym wymogami dotyczącymi rejestracji i umieszczania w wykazie, wymogami dotyczącymi etykietowania oraz wymogami dotyczącymi użycia do celów badawczych

Etap 3 – od maja 2027 r. zgodność z:

wymogami systemu jakości (innymi niż wymogi dotyczące dokumentowania reklamacji)

Etap 4 – od listopada 2027 r. zgodność z:

wymogami dotyczącymi przeglądu przed wprowadzeniem do obrotu w przypadku wyrobów IVD wysokiego ryzyka oferowanych jako LDT (wyroby IVD, które mogą być sklasyfikowane w klasie III lub które podlegają licencjonowaniu zgodnie z sekcją 351 ustawy Public Health Service Act)

Etap 5 06/05/2028 zgodność z:

wymogami dotyczącymi przeglądu przed wprowadzeniem do obrotu wyrobów IVD umiarkowanego i niskiego ryzyka oferowanych jako LDT

(2)

Znaczenie testów opracowanych przez laboratorium

Testy LDT są często skomplikowane i są opracowywane i przeprowadzane przez wysoko wykwalifikowanych specjalistów. Interpretacja wyników opiera się niejednokrotnie na wiedzy ekspertów analitycznych i klinicystów.

Testy LDT oferują dużą wszechstronność i są w stanie zaspokoić aktualne lub lokalne potrzeby kliniczne, które są niezaspokojone, gdy opracowanie zautomatyzowanych metod jest niemożliwe.

Testy LDT są szczególnie cenne tam, gdzie proces regulacyjny FDA nie nadąża za szybkim rozwojem wiedzy⁽³⁾, a także wspierają innowacje w zakresie diagnostyki in vitro (IVD).

Testy LDT pozwalają wykryć m.in.:

- nowe wirusy, takie jak SARS-CoV-2,
- nielegalne nowe substancje psychoaktywne („dopalacze”),
- miejscowe narażenie na substancje trujące,
- nowe markery genetyczne wskazujące na ryzyko zachorowania na raka

Ograniczenia

Teoretycznie testy LDT muszą być opracowywane i przeprowadzane wyłącznie w poszczególnych certyfikowanych laboratoriach. Oznacza to, że bezpośredni transfer metod między różnymi laboratoriami nie powinien być dozwolony. Obecnie wiele testów LDT jest prowadzonych na znacznie większą skalę niż dawniej – przez korporacje laboratoryjne oferujące usługi na poziomie ogólnokrajowym. Testy te często wykorzystują instrumenty i komponenty, które nie są legalnie dopuszczone do użytku klinicznego. Jest to brak równowagi, który FDA stara się skorygować.

Dotychczasowe podejście FDA oparte na „uznaniowym egzekwowaniu przepisów” oznaczało, że wiele regulacji dotyczących IVD nie było egzekwowanych w przypadku testów LDT, co umożliwiało omijanie różnych wymogów, takich jak przepisy dotyczące wyrobów medycznych, systemów jakości, przeglądu przed wprowadzeniem do obrotu oraz zgodności po wprowadzeniu do obrotu. Wraz ze wzrostem złożoności i rozpowszechnienia LDT brak nadzoru FDA w porównaniu do standardowych IVD wzbudził obawy dotyczące ważności, niezawodności i bezpieczeństwa testów, co doprowadziło do planowanych zmian.

Powszechnie używany sprzęt

W testach LDT wykorzystywane są najnowocześniejsze, wysoce wyspecjalizowane i czułe urządzenia analityczne oraz detektory, takie jak wysokosprawną chromatografię cieczową (ang. High Performance Liquid Chromatographies, HPLC) czy spektrometrię masową opartą na pomiarze czasu przelotu (ang. Time of Flight Mass Spectrometry, TOF-MS)⁽⁴⁾. Te metody i zaawansowane urządzenia – stosowane przez wykwalifikowany i kompetentny personel – stanowią szczególnie potężne narzędzia wspierające klinicystów. Umożliwiają identyfikację i kwantyfikację w wysokiej rozdzielczości różnorodnych markerów biologicznych, takich jak hormony, aminokwasy, kwasy tłuszczowe, białka czy peptydy – na poziomach od śladowych po wysokie, nawet w złożonych matrycach.

Obsługa tak wrażliwego sprzętu wymaga dużej ostrożności i specjalistycznych umiejętności. W celu minimalizacji potencjalnych zanieczyszczeń, które mogłyby wpłynąć na wyniki i granice wykrywalności, stosuje się kontrolowane środowiska pracy, takie jak czyste pomieszczenia, oraz wysoce oczyszczone odczynniki chemiczne. Podczas opracowywania testów LDT definiowane są krytyczne parametry kluczowe dla sukcesu, takie jak dobór odpowiednich substancji chemicznych, które następnie muszą być stosowane zgodnie z zatwierdzoną i certyfikowaną metodą.

Natomiast testy IVD wykonywane na automatycznych analizatorach korzystają z odczynników chemicznych ocenionych i zatwierdzonych przez konkretnego producenta, co zapewnia ich zgodność z przeznaczeniem oraz bezpieczeństwo stosowania. Dodatkowo dokumentacja potwierdzająca ich jakość jest dostępna i możliwa do zweryfikowania. Metody oraz sprzęt analityczny są starannie opracowane zgodnie z systemami zarządzania jakością (ang. Quality Management Systems, QMS) obowiązującymi dla wyrobów medycznych, takimi jak norma ISO 13485.

Zapewnienie zgodności z QMS dla wyrobów medycznych stanowi jedno z głównych wyzwań dla dostawców testów LDT. Jest to niezbędne, aby zagwarantować wymaganą pewność co do niezawodności sprzętu analitycznego oraz uzyskiwanych wyników testów, a także aby spełnić nowe wymogi FDA. Sekcja 7.4 tego standardu obejmuje m.in. zgodny proces zakupów, w tym wybór i określenie dostarczanych komponentów, materiałów eksploatacyjnych oraz substancji chemicznych niezbędnych do wykonywania testów IVD.

Woda oczyszczona jest odczynnikiem powszechnie stosowanym do dostarczania wielu testów LDT i została omówiona w poniższej sekcji.

Woda oczyszczona do automatycznych analizatorów IVD

Oczyszczona woda jest bezsprzecznie najczęściej używanym odczynnikiem w diagnostyce in vitro. Ze względu na jej znaczenie oraz duże zapotrzebowanie większość analizatorów automatycznych stosowanych w IVD jest wyposażona w systemy generujące wodę o wysokiej czystości i dostarczające ją bezpośrednio do testu. Takie rozwiązanie eliminuje ryzyko skażenia wynikające z obrotu i

warunków środowiskowych.

Czystość wody wykorzystywanej w analizach klinicznych została określona przez Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) w normie Clinical Laboratory Reagent Water (CLRW). Udowodniono, że jest to odpowiednia jakość do niezawodnego działania automatycznych analizatorów IVD i jej parametry przedstawiono w poniższej tabeli:

Parameter	Specyfikacja CLSI CLRW
Rezystywność	> 10 MΩ.cm
OWO (ogólny węgiel organiczny)	< 500ppbC
Cząsteczki	Filtracja 0.22μm
Bakterie	< 10 jtk/ml

Rezystywność wskazuje na niski poziom rozpuszczonych jonów nieorganicznych (zanieczyszczeń), OWO na minimalną zawartość materii organicznej, filtracja usuwa cząstki zawieszone, a niska liczba bakterii potwierdza ograniczoną aktywność mikrobiologiczną. Urządzenia do oczyszczania wody wyposażone są w czujniki monitorujące jakość wody i są często walidowane przez producentów zarówno

podczas instalacji, jak i okresowo w celu potwierdzenia prawidłowego działania i utrzymania wydajności na miejscu. Takie monitorowanie i testowanie w oparciu o uznany standard CLSI zapewnia FDA pewność i identyfikowalność, że stosowana woda spełnia wymogi jakościowe niezbędne do podejmowania trafnych decyzji klinicznych.

Oczyszczona woda w przypadku testów LDT

Woda o wysokim stopniu oczyszczenia jest także stosowana w różnych aspektach diagnostyki in vitro w ramach testów LDT, lecz wymagania dotyczące czystości mogą być mniej jasno zdefiniowane i stosowane. Choć wykazano, że woda spełniająca normę CLRW jest odpowiednia w przypadku analizatorów automatycznych, wysoka złożoność oraz czułość sprzętu używanego w wielu testach LDT wymaga znacznie wyższego poziomu czystości.

Wymagana czystość wody często odpowiada standardom wody destylowanej typu 1, która charakteryzuje się rezystywnością > 18,2 MΩ·cm (przy 25 °C) oraz TOC < 10 ppbC. W analizach HPLC, powszechnie stosowanych w diagnostyce klinicznej, wyraźne zakłócenia linii bazowej obserwuje się przy OWO wody odczynnikowej na poziomie 100 ppbC, a doświadczenia wskazują, że wydajność zaczyna się pogarszać już przy wzroście OWO powyżej 5–10 ppbC⁽⁵⁾. Znaczenie niskiego poziomu OWO w zastosowaniach chromatograficznych potwierdza specyfikacja ASTM D1193 dla wody odczynnikowej stosowanej w IC, określająca limit < 50 ppbC, oraz wymóg rezystywności > 18 MΩ·cm przy 25 °C.

Woda oczyszczona jest używana w dużych ilościach w wielu testach LDT, takich jak te oparte na chromatografii cieczowej, co zwiększa ryzyko, że zanieczyszczenia wpłyną na jakość wyników.

Czasami do analiz laboratoryjnych używa się wody pakowanej,

dedykowanej konkretnym zastosowaniom, jednak jej czystość nie zawsze może być zagwarantowana. Choć komercyjnie butelkowana woda może być opatrzona certyfikatami czystości, często nie odzwierciedlają one faktycznej jakości wody w momencie jej wykorzystania. Wynika to z możliwości zanieczyszczenia w trakcie przechowywania – między momentem analizy a użyciem – oraz z łatwości, z jaką może dojść do zanieczyszczenia.

Zanieczyszczenia organiczne mogą pochodzić z plastikowych butelek lub elastomerowych zamknięć, a szklane butelki mogą uwalniać jony nieorganiczne obniżające rezystywność wody. Po otwarciu butelek może dojść do dalszego zanieczyszczenia z różnych nieoczekiwanych źródeł, takich jak lokalne powietrze, urządzenia laboratoryjne, pojemniki do przechowywania wody, sprzęt do jej przenoszenia, a także operatorzy i stosowane przez nich produkty higieniczne. Poziom zanieczyszczeń może narastać z czasem i przy wielokrotnym kontakcie.

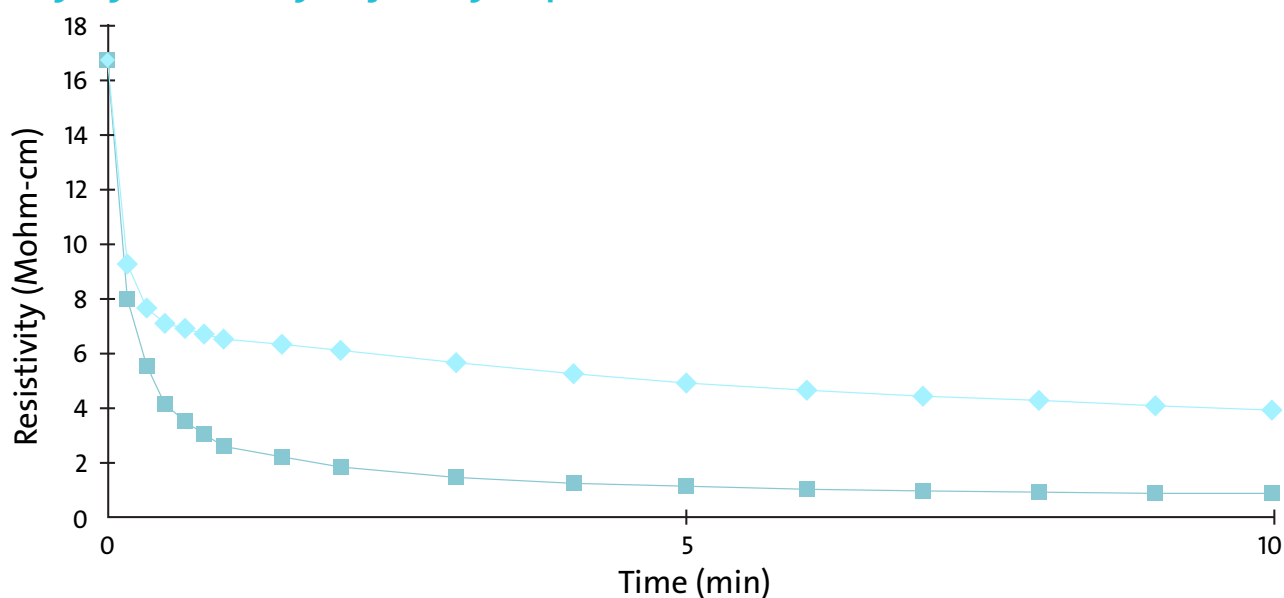
Ogranicza to zaufanie do czystości pakowanej wody, ponieważ testy jakości często przeprowadzane są znacznie wcześniej niż moment użycia czy nawet pakowanie. Ponadto wielokrotne wykorzystanie tej samej partii wody w opakowaniach zwiększa ryzyko pogorszenia jej jakości i może prowadzić do niejednorodności wyników analiz.

Woda destylowana jest jedną z najczystszych substancji stosowanych w analizie laboratoryjnej, jednak jako „uniwersalny rozpuszczalnik” ma zdolność do rozpuszczania niemal wszystkiego. Po wytworzeniu bardzo łatwo ulega zanieczyszczeniu, które może wystąpić w sposób nieoczekiwany.

Zanieczyszczenie wody destylowanej może nastąpić niemal natychmiast, co ilustrują poniższe przykłady: spadek

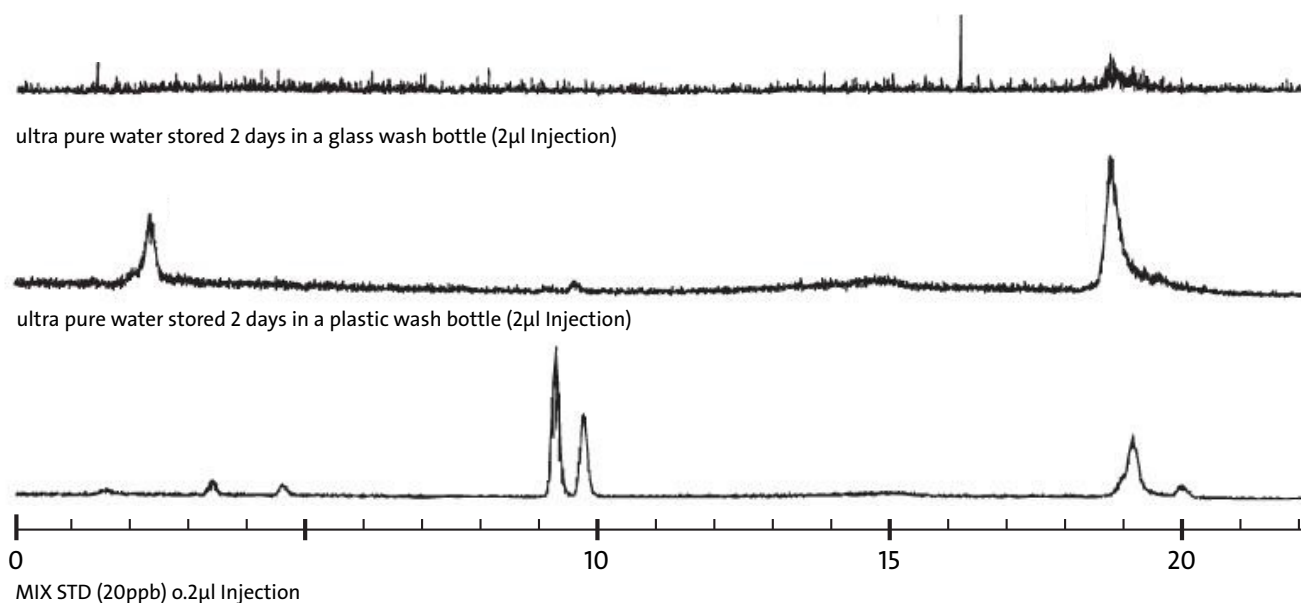
rezystywności wody pod wpływem ekspozycji na powietrze, pojawienie się zanieczyszczeń w śladach HPLC spowodowane zanieczyszczeniem podczas przechowywania oraz wykrycie plastifikatorów w wodzie destylowanej, która miała krótki kontakt z materiałem PVC.

Rezystywność czystej wody w powietrzu



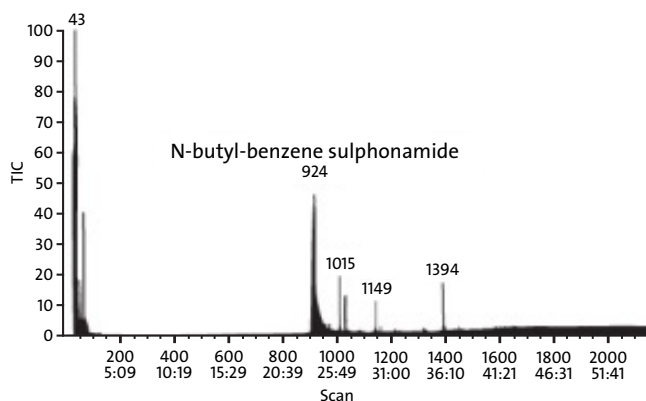
Po wystawieniu wody destylowanej na działanie powietrza rezystywność spada niemal natychmiast na skutek rozpuszczenia się zanieczyszczeń.

Zanieczyszczenie z butelki do płukania



Chromatogramy pokazują pogorszenie wyników analitycznych w wyniku przechowywania wody destylowanej.⁽⁶⁾

Woda destylowana przepuszczona przez 50 cm elastycznej rurki z tworzywa sztucznego



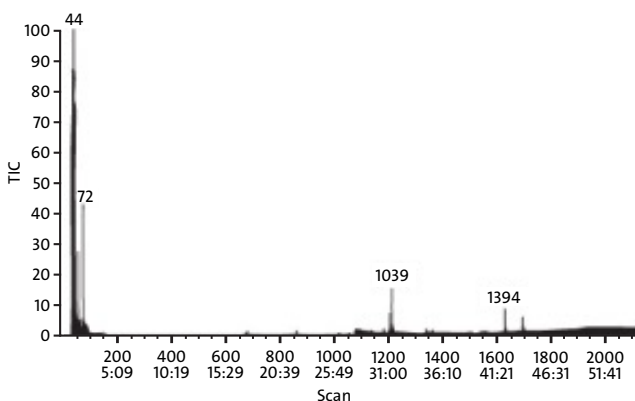
Zapis spektrometrii mas wyraźnie wskazuje na zanieczyszczenie plastyfikatorem destylowanej wody poprzez krótki kontakt z tworzywem sztucznym.

Chociaż wpływ zanieczyszczenia wody na aparaturę analityczną zazwyczaj jest oczywisty, nie zawsze tak się dzieje – np. stopniowe nagromadzenie substancji stałych w systemie może prowadzić do powolnego pogarszania się wydajności, które pozostaje niezauważone. Wiodący producent sprzętu HPLC-MS podkreśla, że stosowanie wody destylowanej (wolnej od cząstek, chemicznie czystej, o rezystywności $>18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) znacząco ogranicza ryzyko akumulacji zanieczyszczeń⁽⁷⁾.

W związku z tym, gdy czystość wody ma kluczowe znaczenie dla powodzenia analizy – jak ma to miejsce w wielu testach LDT wykorzystujących wysoce czuły sprzęt – woda powinna być wykorzystywana możliwie jak najszybciej po wygenerowaniu przez system oczyszczania i chroniona przed zanieczyszczeniem.

W przypadkach, gdy woda jest produkowana lokalnie,

Woda destylowana



jakość może być monitorowana w czasie rzeczywistym dzięki skalibrowanym czujnikom zamontowanym w torze przepływu. Umożliwiają one natychmiastowe wykrycie nieoczekiwanych zmian w czystości wody, zanim wpłyną one na wyniki testów.

Renomowani producenci systemów oczyszczania wody oferują również pakiety walidacyjne in-situ, potwierdzające zgodność rzeczywistej wydajności systemu z oczekiwaniami – zarówno podczas instalacji, jak i w ramach cyklicznej kontroli.

Kalibracja i walidacja zapewniają identyfikowalność oraz pewność co do czystości kluczowego odczynnika, jakim jest woda, co przekłada się na niezawodność i spójność działania testów LDT. Jest to również istotny element wykazywania zgodności z systemem zarządzania jakością wobec instytucji regulacyjnych, takich jak FDA.

Wnioski

- Nowe ograniczenia stanowią wyzwanie dla dostawców testów LDT, potencjalnie ograniczając elastyczność świadczonych usług.
- Wstępna faza zaostrzania nadzoru ze strony FDA obejmuje zwiększoną kontrolę nad zarządzaniem jakością, w tym nad procesem zakupu odczynników i komponentów wykorzystywanych do wykonywania testów LDT.
- Oczyszczona woda to kluczowy odczynnik wykorzystywany w wielu testach IVD, w tym LDT, który będzie podlegał zwiększonej kontroli w ramach nowych wymogów systemu zarządzania jakością.

- Wysoką jakość wody wykorzystywanej w testach LDT można zapewnić, stosując zaawansowane systemy oczyszczania wody, generujące wodę zgodną z wymaganiami – analogicznie do rozwiązań stosowanych w automatycznych analizatorach IVD.
- Renomowani dostawcy systemów do oczyszczania wody oferują pakiety walidacyjne umożliwiające potwierdzenie prawidłowego działania urządzeń na miejscu oraz kalibrację wbudowanych czujników monitorujących czystość w czasie rzeczywistym. Dane te mogą być wykorzystywane do wykazania zgodności z wymaganiami jakości dotyczącymi wody stosowanej w IVD.

Źródła

- (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

**Veolia
Water Tech**

Veolia Water Technologies Sp. z o.o.
Al. Jerozolimskie 146 A • 02-305
Warszawa Tel. +48 22 506 57 00

Oddział w Tychach:
ul. Metalowa 3 • 43-100 Tychy
Tel. +48 32 506 50 20

info.poland@veolia.com
www.veoliawatertechnologies.pl