

Preparación e implementación de una prueba desarrollada por un laboratorio

Objetivos de aprendizaje

- Describir la forma en que un laboratorio puede prepararse para diseñar e implementar una prueba desarrollada por un laboratorio (LDT)
- Describir los pasos típicos de la implementación de la LDT e identificar las cuestiones clave que deben abordarse en cada etapa del proceso

Introducción

Las pruebas de investigación y desarrollo (I+D) constituyen una subcategoría única de pruebas en un laboratorio clínico. Las pruebas de I+D deben separarse de las operaciones de pruebas clínicas, llevarse a cabo mediante plataformas diferentes y, de preferencia, realizarse en laboratorios independientes.

Las muestras clínicas y de I+D no deben incluirse en el mismo proceso, y el instrumental utilizado para un ensayo de I+D que se encuentre dentro del espacio ocupado de un laboratorio clínico debe estar claramente etiquetado como “Uso exclusivo para investigación” y “No para pruebas clínicas”. Es preferible evitar que se compartan los equipos, pero si es necesario hacerlo, deben estar claramente identificados como de uso para pruebas clínicas o de investigación en días u horarios de operación específicos.

Si una prueba de I+D tiene utilidad clínica, un laboratorio puede optar por implementarla como LDT. Una LDT es una prueba de diagnóstico diseñada, validada y realizada por un laboratorio individual. Si una LDT no se transfiere, licencia o vende a otros laboratorios, no se considera una prueba de diagnóstico *in vitro* (IVD) por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). La decisión de desarrollar una LDT se basa en gran medida en la población de pacientes, las solicitudes de los profesionales de la salud y los conocimientos técnicos del laboratorio.

Aunque las LDT solo pueden utilizarlas los laboratorios que las desarrollan, un laboratorio puede considerar que una LDT es la mejor opción cuando se necesita una prueba de diagnóstico para cumplir con requisitos clínicos específicos. Suele darse el caso de que no hay ensayos IVD aprobados por la FDA para analizar una enfermedad o afección infrecuente. Un laboratorio también puede optar por una LDT cuando hay un marcador recientemente identificado o notificado que no se incluye en el panel de un ensayo IVD existente aprobado por la FDA.

Una LDT debe verificarse al demostrar que tiene utilidad clínica para la población de pacientes prevista, pero puede implementarse rápidamente para uso de emergencia. Esta es una ventaja importante cuando una prueba debe desarrollarse e implementarse en respuesta a una emergencia como una epidemia o pandemia.

¿Cómo se desarrollan las LDT?

La necesidad de una LDT se justifica en función de la aportación clínica para mejorar la atención al paciente. Por lo tanto, la aportación de un promotor clínico es clave en el proceso de desarrollo del ensayo. El laboratorio que desarrolle el ensayo debe conocer la forma en que se utilizará la prueba y comprender el tipo de muestra, el rango de detección, los requisitos de respuesta y las posibles pruebas complementarias.

Es en esta fase cuando el laboratorio decide la tecnología, el tipo de muestra y la metodología de prueba que se emplearán para realizar la LDT. La metodología de prueba puede ser tan sencilla como agregar un nuevo analito a una prueba establecida o utilizar una plataforma diferente en el laboratorio. La metodología de las LDT podría requerir que estas se desarrollen de forma más intensiva si implica un nuevo tipo de muestra, nuevo instrumental o nuevos biomarcadores. También puede requerir optimización para mejorar la sensibilidad, reducir el tiempo de respuesta o beneficiar a un nuevo grupo demográfico de pacientes.

Un laboratorio clínico puede desarrollar una LDT para un nuevo analito o biomarcador *de novo* y someterla a los estudios analíticos, de rendimiento y validación clínica necesarios, tal y como se define en 42 CFR §493.1443¹, para satisfacer los criterios del director del laboratorio y de los funcionarios reguladores a nivel estatal.

La implementación de una LDT requiere un proceso de investigación y desarrollo que documente los procedimientos operativos

estándar (POE) del ensayo e incluya estudios básicos de validación de métodos analíticos para demostrar que el ensayo cumple con los requisitos clínicos. También puede incluir estudios clínicos piloto para documentar el rango de valores que puede esperarse en la población de pacientes objetivo. El traspaso a un laboratorio de pruebas clínicas debe incluir un informe de validación en el que se proporcionen instrucciones para que el laboratorio verifique los POE o valide los POE modificados.

Licencia y certificación

Aunque cualquier laboratorio puede desarrollar una LDT, un laboratorio de pruebas debe estar certificado conforme a las Enmiendas para el Mejoramiento de Laboratorios Clínicos (CLIA) y tener licencia en el estado en el que opera. Un laboratorio también debe tener licencia en otros estados si un ensayo que desarrolla se va a utilizar para analizar muestras de pacientes que residen en esos estados.

Los criterios de aprobación de las LDT en Estados Unidos varían de un estado a otro. El estado de Nueva York realiza la revisión más estricta de las LDT antes de su aprobación para su uso en muestras de pacientes. Otros estados, entre ellos Washington, tienen requisitos específicos para la aprobación de LDT.

Un laboratorio debe cumplir con los requisitos de la CLIA y los requisitos estatales si tiene previsto proporcionar resultados de pruebas para la gestión clínica de pacientes y recibir pagos de los Centros de Servicios Medicare y Medicaid (CMS) o de seguros privados.

Gestión de calidad y documentación

Un laboratorio con certificación CLIA debe tener un sistema de gestión de calidad (SGC) que especifique qué documentación es necesaria y cómo se archiva. Esto se aplica a todas las pruebas, incluidas las pruebas IVD y LDT. El SGC abarca todos los POE, el seguimiento del control de calidad (CC), los registros de temperatura, los registros de capacitación y competencia del personal, las minutas de las reuniones de gestión de calidad con el director del laboratorio, las comunicaciones de los proveedores sobre retiros o cambios en el rendimiento y la documentación de las acciones correctivas y preventivas (CAPA).

No es necesario que el personal que desarrolla las pruebas sean tecnólogos con licencia, pero aquellos que validan o verifican las LDT deben estar capacitados y calificados para realizar pruebas en muestras de pacientes y tener una licencia estatal o nacional. Las cualificaciones de los tecnólogos médicos, supervisores y directores pueden encontrarse en 24 CFR §493.1449² y en los sitios web de los departamentos de salud estatales³.

Una vez que se valida una prueba y el director del laboratorio firma el informe de validación, todos los tecnólogos que puedan realizar la prueba deben recibir capacitación. La competencia debe evaluarse y documentarse antes de que los tecnólogos estén calificados para realizar la nueva prueba en muestras de pacientes.

Todos los equipos, instrumentos de ensayo y reactivos deben especificarse por proveedor, modelo, número de serie, número de lote u otra categoría aplicable en los registros del

laboratorio. Estas especificaciones no deben modificarse después de la verificación de una IVD o de la validación de una LDT sin realizar estudios adicionales. Dado que los reactivos de las IVD están envasados en kits, los reactivos de lotes diferentes y los que no sean del kit no deben mezclarse ni utilizarse para las pruebas.

Los reactivos de las LDT pueden ser reactivos específicos para analitos (ASR), reactivos de uso exclusivo para investigación (RUO) o reactivos para uso exclusivo experimental (IUO). El proveedor debe proporcionar todas las especificaciones y documentación de los reactivos y estas deben conservarse como registros del laboratorio. Un reactivo de un lote nuevo debe probarse en paralelo con el reactivo equivalente del lote antiguo, tanto para las pruebas IVD como para las LDT, y el director del laboratorio debe firmar la documentación del rendimiento aceptable.

Si se selecciona una plataforma de pruebas diferente para una LDT existente, se debe realizar un estudio paralelo para comparar el rendimiento en la plataforma antigua y en la nueva. Por ejemplo, un laboratorio puede desarrollar una LDT con una plataforma tecnológica de fácil acceso en el laboratorio, como la PCR convencional.

El laboratorio podría cambiar posteriormente a una plataforma más nueva o diferente, como la PCR digital. Para seguir cumpliendo con la normativa, el laboratorio debe demostrar que el rendimiento del ensayo es similar en las dos plataformas. Deben realizarse y documentarse comparaciones cuantitativas y cualitativas para garantizar que los resultados informados son clínicamente equivalentes.

Si se utiliza un reactivo de LDT diferente, se debe realizar un estudio de verificación para demostrar que los resultados de la prueba son consistentes con la interpretación clínica de la validación original. Si es necesario ajustar los rangos esperados de los pacientes, estos cambios deben documentarse en el SGC, actualizarse en el sistema de información del laboratorio (SIL) o en el sistema de información hospitalaria (SIH) y anotarse adecuadamente en cada formulario de informe.

Cuando se diseñan y validan las LDT, debe haber una serie de controles de calidad y de proceso para verificar que todos los pasos del ensayo funcionan correctamente. Dependiendo de la tecnología en la que se base la prueba, los controles adecuados podrían incluir controles de extracción, controles para evaluar la exactitud clínica, controles de hibridación, controles de analitos externos o controles internos para los analitos que se espera que estén presentes en cada muestra de la prueba. Un ejemplo de control interno es el ADN humano en un hisopo nasofaríngeo utilizado para realizar la prueba del SARS-CoV-2. Una concentración de ADN humano por encima de un valor umbral predeterminado confirmaría que se ha tomado una muestra suficiente para detectar el virus en individuos asintomáticos.

Requisitos de aptitud

Todos los laboratorios que realizan LDT o ensayos clínicos IVD autorizados o aprobados por la FDA deben llevar a cabo pruebas de aptitud de rutina o intercambiar periódicamente muestras con otros laboratorios que realicen pruebas similares.

Todas las pruebas de aptitud deben realizarlas el personal técnico calificado, y las muestras deben tratarse exactamente igual que las muestras de los pacientes. Si no se dispone de un estudio de pruebas de aptitud adecuado, es aceptable archivar y almacenar las muestras de los pacientes con el debido consentimiento después de notificarles.

Las muestras remanentes deben agregarse a ciegas a la cola de pruebas del laboratorio al menos dos veces al año y deben tener una estabilidad probada a la temperatura de almacenamiento. No se requiere el consentimiento del paciente para utilizar muestras remanentes para la validación de la prueba y los estudios paralelos si las muestras se han reportado previamente y podrían haber sido descartadas.

Documentación para la capacitación del personal

Los requisitos reglamentarios para la documentación de resultados son los mismos para las pruebas IVD y LDT. Los POE deben revisarse anualmente o cada dos años, en función de los requisitos estatales, y la revisión debe estar firmada por el director del laboratorio. Cualquier cambio o actualización se puede revisar fuera del ciclo o durante el plazo de revisión requerido. Los cambios y las actualizaciones pueden requerir una nueva capacitación y su correspondiente documentación, así como las evaluaciones de competencias de todo el personal encargado de las pruebas.

El SGC exigirá que todas las versiones anteriores se archiven y estén disponibles para su recuperación cuando sea necesario.

Todo el software integrado en el SIL debe salvaguardar la información de salud protegida (ISP) y garantizar la confidencialidad de los pacientes conforme a la Ley de Portabilidad y Responsabilidad del Seguro Médico (HIPAA). La mayoría de los SIL están diseñados para rastrear el acceso de todas las personas que se conectan a un flujo de trabajo de pruebas y proporcionan una pista de auditoría. Los niveles de seguridad se determinan antes de implementar el software en el laboratorio y se mantienen para evitar accesos no autorizados.

Implementación de una LDT

¿Cómo implementa un laboratorio con certificación CLIA un ensayo de I+D como LDT? El proceso de toma de decisiones que se lleva a cabo para el lanzamiento de una LDT consta de varios pasos. Primero se debe evaluar la viabilidad técnica y legal. El director del laboratorio y el consultor clínico deben elaborar un plan de desarrollo con los médicos clave para determinar el diseño del ensayo junto con su uso previsto y las especificaciones de rendimiento. Las especificaciones de los productos IVD para los ensayos que tienen aplicaciones clínicas similares deben compararse con el rendimiento esperado de la LDT. Se debe llevar a cabo un análisis de la libertad de acción para evaluar el panorama de las patentes de la LDT contemplada y cualquier problema potencial de infracción de patentes. La tecnología y la plataforma de las pruebas LDT deben ser adecuadas para el ensayo tal y como se ha diseñado. También es importante determinar si la plataforma ya está disponible en el laboratorio clínico.

Evaluación de la viabilidad y el diseño

La figura 1 ilustra los pasos de la implementación de LDT. Los parámetros clave abarcan el motivo por el que se desarrolla la prueba, la forma en la que se realiza y la forma en la que encaja en las operaciones del laboratorio. La implementación en un laboratorio clínico debe ser viable en términos de espacio, flujo de aire y capacitación tecnológica que requerirá. Una vez que se haya optimizado el procedimiento de prueba, la prueba debe validarse de forma analítica según los requisitos estatales o las directrices del

Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI). Entre estos se encuentran los requisitos de exactitud, sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y otros parámetros que dependerán del origen de la muestra y de la tecnología utilizada. No es necesario que las pruebas aprobadas por la CLIA tengan utilidad clínica, pero los resultados deben ser verificados por otro laboratorio o con otro método para garantizar su exactitud.

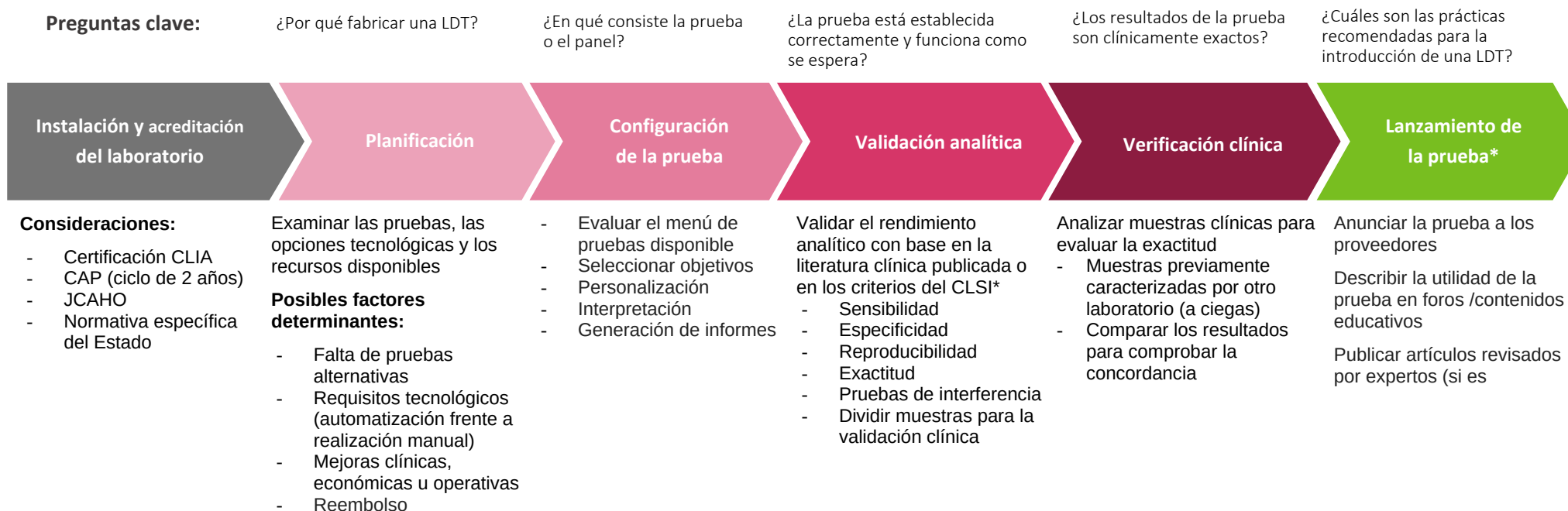


Figura 1. Proceso típico de implementación de LDT desde la planificación hasta el lanzamiento.

El camino desde el desarrollo hasta el lanzamiento

¿Cuánto tiempo toma el desarrollo y la validación de una LDT para uso clínico? Dependiendo de la tecnología, completar todas las fases puede tomar hasta 12 meses. Una vez que se haya establecido la tecnología en la fase de planificación del proyecto, la plataforma de la prueba debe ser adecuada para su uso y estar a disposición del equipo de desarrollo. Se debe desarrollar y optimizar el procedimiento de prueba e identificar, pedir y almacenar reactivos, calibradores, controles y consumibles.

Dependiendo de la tecnología, los calibradores y los controles para las LDT moleculares, las LDT pueden adquirirse de los proveedores de IVD o RUO o prepararse de forma interna a partir de reactivos purificados que se introducen en las matrices adecuadas. Los cebadores y las sondas seleccionados para el análisis de la secuencia genética deben someterse a pruebas de especificidad y confirmarse mediante el análisis BLAST. Los reactivos de extracción de ADN y ARN pueden adquirirse y optimizarse para una determinada matriz de muestra si es necesario. Las mezclas maestras de PCR pueden estar disponibles en el mercado o desarrollarse de forma interna.

Los reactivos utilizados para una LDT deben cumplir con los requisitos de calidad del laboratorio si se adquieren de proveedores que también suministran kits de IVD, aunque se consideren reactivos de LDT en lugar de reactivos de IVD. Cuando el laboratorio utiliza los reactivos, la LDT también debe cumplir con los requisitos de exactitud especificados.

Después de la fase de planificación del proyecto, el ensayo debe optimizarse y validarse de forma analítica en cuanto a exactitud, sensibilidad y especificidad, al igual que en un estudio de validación analítica de IVD. El Programa CLIA exige que todos los procedimientos de prueba estén bien documentados. Los POE de una LDT deben ser específicos y actualizarse con regularidad, y la documentación debe demostrar que los POE se han seguido correctamente. Un laboratorio de LDT debe documentar los estudios de validación analítica, pero el Programa CLIA no exige ensayos clínicos. La utilidad clínica puede evaluarse al comparar los resultados de las pruebas de un subconjunto de muestras con los resultados de otro laboratorio con certificación CLIA, por lo que no es necesario informar los resultados en cohortes de pacientes.

Aunque el desarrollo de ensayos IVD y de LDT requiere la planificación del proyecto, la identificación de los instrumentos, la cualificación, la capacitación del personal y la planificación de la validación previa, el periodo de validación analítica es bastante variable. La validación analítica de una LDT suele tardar más debido a las limitaciones de los recursos técnicos. El proveedor valida clínicamente las pruebas IVD con muestras de una amplia gama de pacientes. La validación clínica de una prueba IVD puede superponerse con la validación analítica, pero deben analizarse muestras clínicas específicas para verificar la utilidad de una LDT para los pacientes. La verificación clínica de una LDT es menos estricta que la validación de una IVD, aunque dependerá de la disponibilidad de muestras de pacientes con y sin la enfermedad de interés y de la presencia o ausencia del analito objetivo en las muestras de los pacientes.

Conclusión

Las LDT tienen un papel específico en los laboratorios clínicos de Estados Unidos. Como prueba de un solo sitio, una LDT es propiedad del laboratorio que la desarrolla. Por razones legales, la propiedad intelectual y la libertad de acción deben establecerse antes del desarrollo de la LDT. Un laboratorio que diseña una LDT debe tener en cuenta qué plataformas de pruebas están disponibles, así como la necesidad clínica que la prueba va a satisfacer. Por ejemplo, una LDT para un análisis químico altamente sensible podría requerir una nueva plataforma. Un análisis de sangre para la identificación molecular de un nuevo parásito podría adaptarse a partir de un análisis de orina.

Dado que todos los laboratorios clínicos deben contar con la certificación CLIA, las LDT deben cumplir con los requisitos del SGC del laboratorio. Los laboratorios con certificación CLIA también deben participar en programas de pruebas de aptitud, así como conservar la documentación de capacitación y competencia de todos los empleados. Todos los estudios de validación analítica de LDT deben documentar la exactitud, la sensibilidad, la especificidad y la reproducibilidad de las pruebas. Los estudios de verificación clínica también son necesarios para que las LDT demuestren que las pruebas tienen utilidad clínica para las poblaciones objetivo definidas por los laboratorios de pruebas.

Referencias

1. Standard; Laboratory Director Qualifications, 42 CFR §493.1443 (2003).
2. Standard; Technical supervisor qualifications., 24 CFR §493.1449 (1993).
3. Washington State Office of Laboratory Quality Assurance, <https://www.doh.wa.gov/LicensesPermitsandCertificates/FacilitiesNewReneworUpdate/LaboratoryQualityAssurance>.

Autores

Mara G. Aspinall, MBA, socia gerente de Health Catalysts Group; profesora de práctica y cofundadora del Programa de Diagnóstico Biomédico de la Universidad Estatal de Arizona

Michael Donovan, PhD, JD, socio gerente de MJD Consulting; catedrático, Diagnóstico Biomédico, Universidad Estatal de Arizona

Marilyn Owens, PhD, MBA, socia gerente de Medical Laboratory Strategy and Leadership, LLC