[総 説]

微生物検査の国際標準化の重要性

石井良和

東邦大学医学部微生物・感染症学講座

(令和5年6月28日受付)

International Organization for Standardization (ISO: 国際標準化機構) の規格文書の策定は、世界の専門家によって構成される専門委員会 (Technical Committee: TC) である。ISO は、専門家の知識を抽出し、どの国でも適用できる規格文書を作成している。ISO 規格文書は、専門家の助言に基づいて、使用される用語と適用範囲を定義し、最新の専門知識を反映した要求事項がまとめられている。この文書を導入すると、同一品質の製品・サービスを提供することが可能となる。ISO を構成する TC のうち、ISO/TC212 は「臨床検査と体外診断検査システム (Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic testing system)」を担当し、5つの作業部会 (Working Group: WG) に分かれて活動をしている。このうち WG1 は「臨床検査における品質と能力 (Quality and competence in the medical laboratory)」, WG4 は「微生物検査と分子診断 (Microbiology and molecular diagnostics)」の規格文書の策定をそれぞれ担当している。WG1 が担当している最も重要な文書は、ISO 15189: 2022「臨床検査室—品質と能力に関する特定要求事項 (Medical laboratories — Requirements for quality and competence)」である。WG4 が担当する文書は、微生物学検査はもとより、病理学検査や最先端の Liquid biopsy などの分子生物学的検査に至るまで、非常に多岐にわたっている。最近 ISO/TC212/WG4 は ISO/TC276 (バイオテクノロジー) と Joint Working Group (JWG) を組織して、ISO/TS 5798「体外診断検査システム—核酸増幅法を用いた SARS-CoV-2 検出に関する要求事項と推奨事項 (ISO/TS 5798: 2022 In vitro diagnostic test systems — Requirements and recommendations for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods)」を刊行した。また、WG4 は活発に活動しており、多くの規格文書を刊行している。ISO/TC212 から日本の貢献が期待されていることから、その活動を継続するために、若い研究者や医療関係者の参画が求められる。

Key words: International Organization for Standardization, technical committee, requirement, recommendation

はじめに

International Organization for Standardization (ISO: 国際標準化機構) は、1947年に設立されたスイスに本部を置く非営利法人である。ISO は国際規格 (ISO 規格) を策定し、国際的な取引を円滑に進めるために、世界中で同じ品質の製品・サービスを提供するための国際基準となっている。また、製品・サービス以外にも、組織活動の品質や労働環境を管理するためのマネジメントシステムにも ISO 規格が存在する。これらには、品質マネジメントシステム (ISO 9001) や環境マネジメントシステム (ISO 14001) などの規格文書が該当する。マネジメントシステムとは、組織として目的を達成するために、規程や手順を策定し、これを運用する際の責任と権限について明確化・体系化する仕組みのことを言う¹⁾²⁾。

病院において重要な「ISO 15189 (臨床検査室—品質と能力に関する特定要求事項)」は、「品質マネジメントシステム

の要求事項」と「臨床検査室が請け負う臨床検査の種類に応じた技術能力に関する要求事項」から構成されている³⁾。すなわち、ISO 15189 は ISO 9001 および ISO 17025 をもとに、一般検査、血液学的検査、生化学的検査、免疫学的検査、微生物学的検査、病理学的検査などを対象とした要求事項である^{1)~4)}。

本稿では 300 を超える ISO の専門委員会 (Technical Committee: TC) のうち、ISO 15189 をはじめとする「臨床検査と体外診断検査システム (Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic testing system)」を担当する ISO/TC212 がこれまで公表した規格文書と今後の展望について私見を交えて概説する。

ISO/TC212 の組織と概要

ISO/TC212 の議長は幹事国である米国のアメリカ規格協会 (American National Standards Institute: ANSI) の Jesus Rueda Rodriguez 氏が務めているが、実際の事務局は臨床・検査標準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI) が担当している。我が国では日本産業標準調査会 (Japanese Industrial Standards Committee: JISC) か

著者連絡先: (〒143-8540) 東京都大田区大森西 5-21-16
東邦大学医学部微生物・感染症学講座
石井良和
TEL: 03-3762-4151

Table 1. Template for comments and secretariat observations (author modification)

MB/NC ¹	Line number (e.g. 17)	Clause/ Subclause (e.g. 3.1)	Date:	Document:	Project:		
			Paragraph/ Figure/Table/ (e.g. Table 1)	Type of comment ²	Comments	Proposed change	Observations of the secretariat

1: MB=Member body / NC=National Committee (enter two-letter country code, e.g. JP for Japan; comments)

2: Type of comment: ge = general, te = technical, ed = editorial

Table 2. Five working groups and roles in ISO/TC212 (Chairman of the National Review Committee: Hayato Miyachi)

Working group	Role	Role (in Japanese)	Japanese delegation
1	Quality and competence in the medical laboratory	臨床検査室における品質と能力	Hayato Miyachi
2	Reference systems	基準システム	Hiroki Saeki
3	In vitro diagnostic products	体外診断用製品	Tomoya Sakurai
4	Microbiology and molecular diagnostics	微生物学と分子診断	Yoshikazu Ishii
5	Laboratory biorisk management	検査室のバイオリスク・マネジメント	Hiroaki Ohnishi

ら委託を受けた日本臨床検査標準協議会 (Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards : JCCLS) が事務局を担当し、国内検討委員会委員長は新渡戸文化短期大学の宮地勇人先生が担当している。

ISO/TC212は42か国のP-メンバー、17か国のO-メンバーからなり、後述する文書の承認はP-メンバーの投票によって行われる。日本はP-メンバー国であり、提案された文書策定、それを確認して承認あるいは不承認の投票と必要なコメント送付の義務を有している。なお、コメントは単に意見を述べるのではなく、文章の修正提案を、コメントテーブルを用いて提出しなければならない (Table 1)。

ISO/TC212はTable 2に示すように5つのworking group (WG) から構成されている。各WGの文書策定チームはオンライン会議で議論を進めながら文書案を策定する。策定された文書は、年に一度開催されるISO/TC212の全体会議の前に開催されるWGの全体会議で修正の後、承認をえることができればISO/TC212の全体会議に提示して承認をえなければならない。さらに、今後の活動の提案がされ、承認されればその予備段階を開始する。

臨床検査の標準化の意義

微生物検査を含む臨床検査は、画像検査とは異なり、医師がその結果を検証することはできない。したがって、検査結果は常に精確であることが要求される。すなわち、微生物検査は“いつでも”、“どこでも”、“だれでも”同じ検査結果を報告することができるように、標準化された検査を導入することが重要である。

微生物検査は特別な技術やコツが重要とされていた。すなわち、微生物検査の結果は、個人の資質や経験を必要とする

と考えられていた。これは、ある意味では日本の微生物検査業界の強みであることも事実である。標準化の目的である誰もが日常業務を行えるようにすると、“その道のスペシャリスト”を失うことが懸念される。しかし、スペシャリストが職場を去ると、検査レベルを維持することが困難になる。そのため、微生物検査業務の標準化が必要となる。標準化することにより、検査手順や検査品質の基準などが明確となり、誰でも同じ検査結果を臨床に提供することが可能となる。さらに、先輩たちが積み重ねてきた経験に基づく技能を、手順書やマニュアルにまとめることで、後輩たちがそれらを効率的に継承できるようになる。さらに、標準化がもたらす効果として、PDCAサイクル (Plan, Do, Check, Action) を効果的に回して、微生物検査業務を改善して長期間、安定して組織が機能することも挙げられる。PDCAサイクルを維持するためには、①検査の質に関わることは文書として記録すること、②検査室要員の役割と責任を明確にすること、③内部監査体制の確立と日常業務の監査が重要であることがISO 15189 [臨床検査室—品質と能力に関する特定要求事項]でも触れられている。

ISO 15189の認定施設が増加した背景

我が国でISO 15189の認定施設が増加した背景として、平成25年7月1日付の事務連絡「治験における臨床検査等の精度管理に関する基本的考え方について」や平成28年度の診療報酬改定で「国際標準検査管理加算の施設基準」が設置されたこと、東京オリンピック・パラリンピック開催時の医療ツーリズム市場の大きさなどが挙げられる。事務連絡では、治験時に検査を実施する施設は「臨床検査を米国臨床病理学会 (College of American Pathologists : CAP) またはISO

15189などの外部評価による認定」が求められた。また、診療報酬改定で「国際標準検査管理加算」が新設されたが、加算を受けるためには「国際標準化機構が定めた臨床検査に関する国際規格に基づく技術能力の認定」を受けている保険医療機関であることが求められた。医療ツーリズムにおいては、海外のあるいは我が国の医療施設間の検査データに互換性が求められることから、国際的に標準化された検査が求められる。それらのことも日本でISO 15189の認定を受ける施設が増加した一因と考えられる。ただし、ISO 15189の認定を受けた施設の検査成績は、患者および医師からの信頼を受けることはもとより、上質の医療を提供することにつながることも重要である。

ISO/TC212/WG4が最近刊行した文書

昨年、ISO/TS 5798 [体外診断検査システム—核酸増幅法を用いたSARS-CoV-2検出に関する要求事項と推奨事項]が刊行された。TSはTechnical specification (技術仕様書)の略で、通常のISOの規格文書とは異なり、推奨事項を記載した暫定的な文書である。ISOの規格文書とISの改訂は、それぞれ5年ごとおよび3年ごとに行われる。COVID-19の蔓延に伴って、多種多様な核酸抽出試薬、核酸増幅試薬および検出機器の組み合わせによるSARS-CoV-2の病原体核酸増幅検査が世界各国で実施されるようになった。しかし、その検査の標準化がなされていなかった。そのような背景から、ISO/TS 5798は、SARS-CoV-2の病原体核酸増幅検査の標準化のための推奨事項を取りまとめて刊行された。この文書は、ISO/TC212およびISO/TC276 (バイオテクノロジー)がJoint Working Group (JWG)を組織して策定した文書であり、ISO/TC212からは宮地勇人国内検討委員会委員長 (前出)がproject readerの一人として、また古田耕委員 (ISO/TC212/WG1およびWG4担当)が文書策定チームの一員として参画された。

ISO/TS 5798は、SARS-CoV-2の核酸増幅検査法の設計、開発、検証、妥当性確認、ヒト由来検体に対する検査前、検査、検査後の各プロセスに関する推奨事項が記載されている。したがって、ISO/TS 5798は下水中などの環境由来検体に対する検査をカバーしない。なお、ISO/TS 5798のStakeholder (利害関係者)として、体外診断用医薬品の開発・製造業者やSARS-CoV-2の研究・診断を支援する機関・組織などが挙げられる。

日本におけるISO/TS 5798に対する認知度は高いとは言えないが、病原体核酸検査の標準化に対する考え方や、様々な推奨事項がまとめられた日本発の有用な文書であると考えている。病原体核酸検査を実施している施設の検査担当者が手に取って読まれることに期待したい。

2020年以降、ISO/TC212/WG4から刊行された文書は以下のとおり多岐にわたっている。いくつかの文書は微生物検査に関係しており、それらの文書は、是非ご一読いただきたい。ISO 17822:2020 [体外診断検査システム—微生物病原体の検出と同定に関する核酸体外診断用製品—核酸増幅の品質規範]、ISO 21474-1:2020 [体外診断表医薬品・医療機器—核酸による多項目分子学的検査—第一部:用語と核酸品質評価に関する一般的要求事項]、ISO 21474-2:2022 [体外診断

表医薬品・医療機器—核酸による多項目分子学的検査—第二部:妥当性の確認と検証]、ISO 20166-4:2021 [分離学的体外診断試験—FPPE組織の試験前処理の規格—第四部:in situでの検出技術]、ISO 20184-3:2021 [分離学的体外診断試験—凍結組織の試験前処理の規格—第三部:DNA分離]、ISO 23118:2021 [分離学的体外診断試験—尿、静脈血および血漿中の代謝に対する検査前処理の規格]、ISO 16256:2021 [臨床検査及び体外診断検査システム—感染症に関連する酵母用真菌に対する抗真菌薬の体外活性検査の基準法]、ISO 20776-2:2021 [臨床検査と体外診断検査システム—感染性病原体の感受性検査及び抗菌薬感受性検査機器の性能評価—第二部:抗菌薬感受性検査機器の性能評価]^{6)~13)}。なお、ISO 21474-1およびISO 21474-2は日本が提案し、宮地委員長がProject readerとしてまとめて公表した文書である。

これらに先行していくつかの関連文書も2019年までに刊行されている。微生物検査と分子診断を担当するWG4は多くの文書策定と見直しを担当している。ただし、日本から実際に活動しているのは限られた担当委員だけであること、若い世代の委員が少ないことがこの活動の継続にあたり懸念される。

現在策定予定の規格文書

ISO PWI 8219 [体外診断検査システム—感染症診断と管理における臨床検体から直接塩基配列を決定し微生物の同定および特徴解析のための要求事項 (仮題)]は、臨床検査への応用が検討され始めている超並列シーケンサー (次世代シーケンサーと同義)を用いた病原体の検出および特徴づけのための規格文書である。2022年のISO/TC212の全体会議で文書提案されたが、その後、ISO/TC276から [メタゲノム次世代シーケンス (mNGS) 技術を用いた未知の感染症を引き起こす病原体の同定に関するガイドライン]が提案されていることが判明した。そのため、両者が調整し、ISO PWI 8219に統合することに合意した。すなわち、ISO/TS 5798の時のようにJWGを組織せずに、ISO/TC276はリエゾンメンバーとしてISO PWI 8219の策定に協力することになったことから、2023年度に開催されるISO/TC212の全体会議に改めて提案することとなった。

文書の主要な内容は以下のとおりとすることがこれまでに同意された。①診断目的の塩基配列検査のための検体採取、処理、核酸単離、ライブラリー調製、塩基配列決定、塩基配列解析、および報告、②DNA、RNA (およびそれらの変異)の検出、③対象とする病原体はウイルス、細菌、真菌、その他の真核病原体、④検体の直接評価 (クリニカルメタゲノミクスと表現されることもある)、⑤感染症管理の指針となる非微生物宿主核酸分析は対象外とする。なお、分離株の解析やマイクロバイオームについては、他の文書で取り上げる可能性がある。12名からなる文書策定チームが組織され、2023年10月に開催される全体会議に向けて作業が進んでいる。

他にも [デジタル病理学とAIによる画像解析に関する規格] に関しても議論され、2023年の全体会議で新規提案することが決定している。なお、CENやFDAなどのガイダンスや他の文書やWHOとの連携が必要であること、およびISO/TC215/WG3も関連する文書を策定中であることの情

報が共有された。

臨床微生物にとって重要なディスク拡散法の規格文書が2023年の全体会議で提案されることになった。この文書は、2021年に新規プロジェクトとして承認されたISO/AWI 20776-3 [臨床検査と体外診断システム—感染性病原体の感受性検査及び抗菌薬感受性検査機器の精度能評価—第三部：感染症と関連する好気性の迅速発育菌に対する in vitro 抗菌薬活性検査のためのディスク拡散寒天基準法] を一度取り下げて、新規提案するものである。これまで検討が繰り返されてきたが、以下のような多くの問題点が指摘された。Clinical and Laboratory Standards Institute と European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing の多くの差異、日本に優秀なインフルエンザ桿菌用培地が存在すること、Mueller Hinton 寒天培地の性能にばらつきが大きいこと、そのばらつきの是正が困難なこと、寒天強度により感受性検査結果すなわち阻止円径が異なることから、quality control レンジに生じる差異、ディスク製造企業や培地製造企業の協力が不可欠なことなどが指摘された問題点である。さらに、いくつかの抗菌薬においてブレイクポイント付近の MIC 値と阻止円径に相関がみられず、very major error が 30% 程度生じることが判明している。以上の理由から、ISO/AWI20776-3 は全ての委員からの同意を得ることが困難なことが予想される。そのため、本文書は ISO 20776-1 および-2 のような要求事項ではなく、推奨事項をまとめた TS として新たに提案することになった。ISO は高所得国のみでなく、中所得国や低所得国を含め、全世界で使用できる規格文書を策定する使命がある。ISO/AWI20776-3 は、当に ISO が目指す活動の趣旨に適うものである。

おわりに

ISO/TC212 は「臨床検査と体外診断検査システム」に関する規格文書の作成を担当しており、中でも WG4 は微生物検査と遺伝子検査を担当しており、最も活発に活動している WG である。その守備範囲は微生物検査とそれに関連する遺伝子検査にとどまらず、病理学的検査や Liquid biopsy、さらに臨床検査への artificial intelligence (人工知能) の応用に至るまで、非常に広範な分野に及んでいる。

ISO の活動は世界中で同じ品質の製品・サービスを提供するための国際基準を定めることにある。しかし、国際基準に基づく企業活動は、企業利益はもとより、国益にも直結するものである。そのことを理解して、日本の臨床検査関係の製品を販売する企業には、積極的に ISO の活動に関与していただきたい。

ISO の活動は、大学の研究者や医療関係者にあまり興味を持たれていないのは、事実である。その理由として、①公用語が英語であること、②無給のボランティア活動であること、③書類を見るのに多大な時間を要する、④業績にならないことなどが挙げられる。そのような背景から、ISO の活動に興味を示す研究者や医療関係者は多くない。一方で、ただし、①最先端の技術を知ることができる、②研究者・医療関係者の国際的なネットワークづくりができる、③英語の文章と会話に触れる機会が増えるなどのメリットがある。ISO の活動に興味を持つ、若い研究者あるいは医療関係者が参画するこ

とに希待したい。

アジアの国の中には、国益をかけて ISO の規格文書の策定に関与するために研究者あるいは会社から委員を派遣している国もある。日本が ISO/TC212 の活動に消極的なために、臨床検査の分野で他国の後塵を拝することがあってはならない。若い研究者あるいは医療関係者の協力を得ながら、さらに ISO の活動に我が国が貢献することを切に願っている。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) ISO 9001:2015(en). Quality management systems — Requirements.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9001:ed-5:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 2) ISO 14001:2015(en). Environmental management systems — Requirements with guidance for use.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:14001:ed-3:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 3) ISO 15189:2022(en). Medical laboratories — Requirements for quality and competence.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-4:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 4) ISO/IEC 17025:2017(en). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-3:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 5) ISO/TS 5798:2022(en). In vitro diagnostic test systems — Requirements and recommendations for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:5798:ed-1:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 6) ISO 17822:2020(en). In vitro diagnostic test systems — Nucleic acid amplification-based examination procedures for detection and identification of microbial pathogens — Laboratory quality practice guide.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:17822:ed-1:v2:en>
2023年6月28日現在。
- 7) ISO 21474-1:2020(en). In vitro diagnostic medical devices — Multiplex molecular testing for nucleic acids — Part 1: Terminology and general requirements for nucleic acid quality evaluation.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21474-1:ed-1:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 8) ISO 21474-2:2022(en). In vitro diagnostic medical devices — Multiplex molecular testing for nucleic acids — Part 2: Validation and verification.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21474-2:ed-1:v1:en>
2023年6月28日現在。
- 9) ISO 20166-4:2021(en). Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for preexamination processes for formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue — Part 4: In situ detection techniques.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20166-4:ed-1:v1:en>

- 2023年6月28日現在.
- 10) ISO 20184-3:2021(en). Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for frozen tissue — Part 3: Isolated DNA.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20184-3:ed-1:v1:en>
2023年6月28日現在.
- 11) ISO 23118:2021. Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes in metabolomics in urine, venous blood serum and plasma.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:23118:ed-1:v1:en>
2023年6月28日現在.
- 12) ISO 16256:2021(en). Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against yeast fungi involved in infectious diseases.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:16256:ed-2:v1:en>
2023年6月28日現在.
- 13) ISO 20776-2:2021(en). Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices against reference broth micro-dilution.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20776-2:ed-2:v1:en>
2023年6月28日現在.

Importance of international standardization of microbiological testing

Yoshikazu Ishii

Department of Microbiology and Infectious Diseases, Toho University School of Medicine

The International Organization for Standardization (ISO) develops its standards documents in Technical Committees (TCs) made up of experts from around the world. ISO standard documents are compiled on the basis of expert advice, defining the terminology used and the scope of application, and outlining requirements that reflect the latest expert knowledge. The introduction of these documents ensures that products and services of the same quality can be provided. ISO consists of more than 300 technical committees (TS), of which ISO/TC 212 is responsible for 'Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic testing systems', diagnostic testing systems" and is divided into five Working Groups (WGs). Of these, WG 1 and WG 4 are responsible for the development of standards documents for 'Quality and competence in the medical laboratory' and 'Microbiology and molecular diagnostics' respectively. The most important document for which WG1 is responsible is ISO 15189: 2022 'Medical laboratories — Specific requirements for quality and competence'. The documents for which WG4 is responsible are very diverse, ranging from microbiological tests to pathological tests and molecular biological tests such as the Liquid biopsy. It has recently formed a Joint Working Group (JWG) with ISO/TC276 to develop ISO/TS 5798 'In vitro diagnostic test systems — Requirements and recommendations for the detection of SARS-CoV-2 using nucleic acid amplification methods' was published. WG4 is also active and has published a number of standards documents; the participation of young researchers and medical professionals is required to continue its activities, as Japan's contribution is expected from ISO/TC 212.