

厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
分担研究報告書「広域食中毒発生時の早期探知のための調査の迅速化及びゲノム解析技術を利用した
調査法の確立に資する研究」

反復配列多型解析法の研修会の実施、及びトラブルシューティング集の改訂

研究代表者	明田 幸宏	国立感染症研究所 細菌第一部長
研究分担者	平井 晋一郎	国立感染症研究所 感染症危機管理研究センター
研究協力者	佐藤 梢	国立感染症研究所 感染症危機管理研究センター
研究協力者	小野 諭子	長野県環境保全研究所 感染症部
研究協力者	松山 満貴	長野県環境保全研究所 感染症部

本研究班では、地方衛生研究所(地衛研)における腸管出血性大腸菌(EHEC)の分子疫学的サーベイランスに用いられる反復配列多型解析(MLVA)法の検査精度を向上させるため、精度管理試験を実施してきた。これまで、試験結果に誤りが認められた施設に対しては、個別に改善策を提示してきたが、このような対応では支援可能な施設数に限界がある。特に、技術的課題の克服には、実習を通じた支援が不可欠であると考えられた。

そこで、本研究では、MLVA法の検査精度を技術面・知識面の両面から支援することを目的として、全国の地衛研を対象に研修会を実施した。研修会は、Zoomを用いた遠隔講義と集合形式の実習を組み合わせた3日間の構成とし、講義では、MLVA法に関する総論・各論、異同判定、トラブルシューティングに関して解説した。実習では、EHEC菌株を用いてDNA抽出、電気泳動、GeneMapperによる解析に至る一連の工程を実施した。研修会終了後に実施したアンケートの結果、一定の学習効果が得られたことが確認された。一方で、GeneMapper実習においては時間配分や進行速度に課題があることが明らかとなり、これを踏まえて改良版カリキュラムを構築した。また、参加者からMLVA法の日常検査における質問や問題点を募集し、これらを基に、昨年度までに作成したトラブルシューティング集を改訂した。

これらの取り組みにより、MLVA法における解析技術の習得支援が効果的に実施され、地衛研における検査精度の維持・向上に貢献する成果が得られた。本研究の成果は、今後の研修体制の構築及び教育資材の整備における重要な基盤となるものである。

A. 研究目的

地方衛生研究所(地衛研)では、腸管出血性大腸菌(EHEC)による集団発生を早期に探知するために、反復配列多型解析(MLVA)法を用いたサーベイランスが実施されている¹⁾。MLVA法は、特定の遺伝子領域における繰り返し配列数を測定することで、菌株間の類似性を高精度で評価できる手法である²⁾。本法はPCRを基盤とするため、短時間で解析結果を得ることが可能であり、結果が数値化されることから、自治体間の比較、すなわち広域食中毒への対応にも適している³⁾。このように分子疫学的解析法として有用なMLVA法を公衆衛生分野で活用していくためには、地衛研における検査精度の維持及び向上が不可欠である。

これまで本研究班では、地衛研を対象にMLVA法の精度管理試験を実施し、各施設における検査精度の把握に努めてきた。その結果、基本的な実験操作や解析ソフトに関する理解が十分でない施設が一部に存

在することが明らかとなった。誤答が見られた施設に対しては、実験工程を照会して原因の特定を行い、改善策を提示することで、検査精度の向上を図ってきた。しかし、昨年度のように菌株検体を用いた試験では、発送可能数に制限があるため、全ての施設に対応することは困難である。実際、49施設から応募があったにもかかわらず、受験できたのは21施設に限られた。そこで、施設数の制限を受けずに検査精度の向上を支援する手段として、試験で把握したトラブルを基に解決事例集を作成した。しかし、現時点で事例数は10件に留まっており、今後、さらなる事例の収集と内容の充実が求められる。

一方、精度管理試験の実施やトラブルシューティング集の作成は、知識面での支援にはなるものの、技術の習得や改善には限界がある。これまでの精度管理試験の実施により、電気泳動データからタンデムリポート(TR)を算出する解析ソフトGeneMapper(T hermo Fisher Scientific)の使用に関して、

特に多くの誤りが確認された。解析ソフトの操作方法や実験操作の確実な習得及び改善を図るには、直接的な指導を伴う研修会の実施が効果的であると考えられる。

そこで、本年度は、地衛研のMLVA法における検査精度向上を知識及び技術の両面から支援するため、研修会を実施した。また、研修会参加者を対象として、MLVA法を日常検査で運用する中で生じた質問や問題点を事前に募集し、トラブルシューティング集の拡充を図った。

B. 研究方法

1. MLVA 法の研修会の実施

(1) 研修会の日程及び内容

研修会は令和7年1月28日(火)、30日(木)及び31日(金)に実施し、講義と実習で構成した(表1(A)、図1(A))。初日はZoomによる懸隔形式で、バイオリスク管理(区分:講義①)及びMLVA法の総論・各論に関する講義(区分:講義②)を行った。2日目と3日目は国立感染症研究所(感染研)村山庁舎にて集合形式で実施した。2日目のMLVA法の異同判定(区分:講義③)では、同一クローン由来と判定可能なTR変異の範囲を解説した。MLVA法で使用する代替・解析ツールの紹介(区分:講義④)では、地衛研等で広く用いられていたBioNumerics(Applied Maths社)の新規販売中止を受け、代替解析ツールを紹介した。さらに、実務上の課題に対応するため、トラブルシューティングに関する講義(区分:講義⑤)も実施した。実習では、異なるクローン由来の18菌株のEHEC O157、O26及びO111を使用した。これらの菌株から、1班あたり9菌株、つまり各研修生に3菌株を検体として配布した。配布時に検体の血清型が判別できないようにした。これらの菌株を用いて、2日目に菌株培養液からのDNA抽出、PCR反応、電気泳動を(区分:実習①～③)、3日目にはGeneMapperを用いたデータ解析を行った(区分:実習④)。GeneMapper実習では、Panel及びBinファイルのインポート、ピークのサイジング、Binの修正、電気泳動データの解析、及びトラブル事例由来のデータの解釈を実施した。電気泳動データの解析では、検体の電気泳動で得たデータを用い、それ以外の解析(ピークのサイジング等)では、事前に用意したデータを使用した。研修会最後の実習では、参加者から事前に募った日常検査における質問や問題点に対し、実際の電気泳動データを用いて解説を行った(区分:実習⑤)。

(2) 研修生定員及び対象者

受け入れ可能な研修生数を、MLVAデータからTR数を算出する解析ソフトウェアGeneMapperが搭載されたパーソナルコンピュータ(PC)の利用可能台数に基づき決定した。メーカー及び感染研内の他部署からGeneMapper搭載PCを合計5台借用し、1台を講師用、残り4台を研修生用とした。研修会

では1台のPCを3人で使用する体制とし、1班3名・全4班構成、計12名を定員とした。これにより、各班に1台のPCが割り当てられた。

研修会の対象者として、EHECのMLVA法を導入予定の地衛研等の検査機関、または人事異動等により新たに本法の担当となった職員を想定し、以下の①または②のいずれかに該当する者を要件とした。

- ①今後、MLVA法の導入を予定している、または導入から3年以内の地衛研等の職員
 - ②MLVA法の実施経験が3年以内の職員
- 要件に基づき研修生を選考することで、研修の必要性が高い職員が優先的に参加できるように配慮した。

(3) 研修生の選考

研修会の募集及び参加者の選定を、以下の通り実施した。令和6年10月4日(金)に、56施設の地衛研及び13施設の中核市の検査機関に対して研修会の実施を通知し、同年11月15日(金)を申込締切日とした(図1(A))。申込時には、募集要件を満たしているか、つまり、施設のMLVA法導入年数や職員の経験年数を申告させることで、研修参加の必要性を評価した。さらに、これまで本研究班が実施してきた精度管理への参加状況も選考の要素とした。つまり、過去に落選または未参加の施設を優先することで、教育訓練を受ける機会の均等化を図った。

(4) アンケートによる評価

研修会終了後、参加者を対象にアンケートを実施した(図1(A))。アンケートでは、研修会全体に関する項目として、「時期」、「日数」、「カリキュラム内容」、及び「Zoomによる講義視聴環境」のそれぞれについて、適切であったか、または問題があったかを選択形式で評価させた。各講義・実習については、「理解度」、「業務への活用の可能性」、「内容の量」、及び「進行速度」に関して選択形式で評価を求めた。さらに、研修会全体の項目及び各講義・実習について、自由記述欄を設け、感想や要望を記載させることで、選択結果の背景や根拠を把握できるようにした。提出されたアンケートを評価し、研修会の問題点を明らかにした。

(5) 落選者へのフォロー対応

研修会に参加できなかった落選者に対しては、録画した講義動画の視聴機会を提供する対応を行った(図1(A))。集合形式で実施した2日目の講義についても、Zoomを用いて録画・編集を行い、初日及び2日目に実施されたバイオリスク管理を除く講義について、感染研 感染症危機管理研究センターがアカウントを持つ動画配信サイトを通じて公開する計画とした(表1(A))。落選者には、講義資料の配布と併せて、当該サイトのURLを案内する予定で準備を進めた。

2. トラブルシューティング集の改訂

研修生から募った日常検査における質問や問題点を、研修会での解説とは別に、トラブル事例の題材としても活用した(図1(B))。各トラブルについて、「1. トラブル概要」、「2. トラブルの原因と解決法」及び「3. 実際の事例」の順で解説し、昨年度に作成したトラブルシューティング集に組み込んだ。

C. 研究結果

1. MLVA 法の研修会の実施

(1) 研修生の選考

22施設の地衛研及び2施設の中核市の検査機関から応募があり、全ての施設が参加要件を満たしていた。教育訓練の機会均等を重視し、本研究班がこれまで実施してきた精度管理試験に一度も参加していない4施設の内、3施設を研修会参加とした。残る1施設については、MLVA法の導入の目途が立っていないため、参加対象外とした。また、昨年度の精度管理試験に応募したものの選外となった4施設については、機会均等化の観点から本研修会に参加とした。加えて、昨年度の試験において不正解であった1施設は、検査精度向上の必要があると判断し、参加とした。さらに、昨年度に作成したトラブルシューティング集において事例を提供した4施設については、MLVA法の実施に課題を抱えている可能性があると考え、参加とした。最終的に12施設を参加としたが、その内、1施設の参加者が体調不良により参加を辞退したため、一昨年度の精度管理試験には参加したが、昨年度は不参加の1施設を繰り上げて参加とした。

(2) 研修会の実施

研修会は予定通り実施されたが、実習の一部においてトラブルが発生した(表1(A))。2日目は、PCR産物の電気泳動まで大きな問題なく進行した。しかし、3日目に電気泳動で得られたデータをGeneMapperで解析した際(区分:実習④)、大半のデータにおいて図2(A)に示すようなトラブルが発生した。具体的には、遺伝子増幅産物及びサイズスタンダードを含むほぼ全てのピークの根元に小さなピークが出現し、GeneMapperにおいてはSQ(Size Quality)がエラーと判定された。エラーと判定されたデータは自動でサイジングされないため、サイズスタンダードの手動補正が必要となり、解析作業の進行に支障をきたした。本実習では、Panel及びBinファイルのインポート、ピークのサイジング、Binの修正、電気泳動データの解析、さらにトラブル事例由来のデータの解釈を行う予定であった。しかし、上述のトラブルにより、トラブル事例由来のデータの解釈には至らず、他の項目も一部短縮せざるを得なかった。また、研修会の最後には、事前に募集した日常検査における質問や問題点について、全て解説を行った(実習⑤)が、寄せられた質問等は、「ダブルピーク等の複数ピー

クの判定」、「Binから外れたピークの判定」、「蛍光強度が低いピークの判定」及び「その他」の4つに大別された。なお、GeneMapperによる解析(区分:実習④)でのトラブルの影響もあり、研修会の終了は予定より30分遅れた。

研修会終了後に以下の対応を行った。まず、GeneMapper実習(表1(A)、区分:実習④)で取り扱えなかった内容へのフォローとして、実習で使用予定だったデータ及び模範回答を各研修生に送付し、必要に応じて質問も受け付けた。次に、サンガーシーケンサーのメーカー担当者に協力を依頼し、研修後にトラブルシューティングを実施したが、現時点で、明確な原因は特定できていない。当初は、研修で使用したシーケンサーがキャピラリー及びバッファーマー型のカートリッジ式であったことから、カートリッジ自体の異常も疑われた。しかし、メーカーにカートリッジを返却し、解析を依頼したところ、異常は確認されなかった。そこで、サンプルやバッファーマーに装着したセプターの汚染が原因である可能性が考えられたが、洗浄後のセプターで再解析を行っても現象の改善は見られなかった。

(3) アンケートによる評価

研修生全員からアンケートの提出があった。研修会全体に関する項目では、「時期」及び「Zoomによる講義視聴環境」について、90%以上の評価が得られた(図3、表1(A))。一方で、開催時期の変更を希望した1名は、自由記載欄に「年度後半の開催では、参加後に異動により担当者が変わる可能性があるため」と記載していた。また、「時期は適切」と回答した参加者からも、「MLVA法の新任者として業務を始め、疑問や課題が生じ始めた夏頃の開催でも良かった」との意見があった。「日数」については、4名が「短い」と回答し、3名が「カリキュラムの変更」を要望した。これら7名の内、6名は、自由記載欄で「GeneMapperによるデータ解析(区分:実習④)等の実習の時間が不足している」と回答した。残る1名からは、「MLVA法の結果を保健所へ適切に説明する方法など、結果の活用方法に関する講義を加えてほしい」との要望があった。

各講義・実習に対する評価では、全ての講義及び実習において、「理解度」及び「業務への活用」について「理解できた」以上の回答が100%、またはほぼ100%だった(表1(A)、図4(A、B))。しかし、各講義・実習の「内容の量」及び「進行速度」に関しては、GeneMapperによる解析(区分:実習④)について半数以上の研修生が「少なすぎる」及び「早すぎる」と回答した。事前に募った質問等への回答(区分:実習⑤)においても、一定数の研修生が同様に「少なすぎる」及び「早すぎる」と回答した(表1(A)、図4(C、D))。これら以外の講義・実習については、「講義の量」及び「進行速度」が「適切」との回答が100%、またはほぼ100%であった。

各講義・実習についての自由記述欄では、

GeneMapperによる解析(区分:実習④)については、10名の研修生から意見が寄せられた。この内、8つの意見は「解析時間が足りない」との内容だったことから、選択形式の回答の「内容が少なすぎる」及び「進行速度が早すぎる」は、「実習内容が多いが、作業時間が短すぎた」の意味と考えられた。事前に募った質問等への回答(区分:実習⑤)では、終了時刻が遅れたため、進行速度を早くせざるを得なかった。この実習についての選択式の回答も「内容に対して時間が短かった」を示すと思われた。また、MLVA法におけるトラブルシューティング(区分:講義⑤)についても、「実際にトラブル事例への対応の実習を加えて欲しい」との意見があった。トラブル事例の対応は、GeneMapperの実習(区分:実習④)内で行う予定だったが、時間が足りずに実施できなかった。その他、各講義・実習について、幾つかの要望があり、講師にフィードバックした。

(4)落選者へのフォロー対応

録画した講義については、編集後に動画配信サイトへのアップロードを試みたが、令和7年度から感染研が新機構へ移行することに伴い、同サイトのURLが変更される可能性があることが判明した。そのため、動画の配信は令和7年度以降に延期された。現在、令和7年5月から7月までの期間での配信を予定している。なお、講義資料については令和7年3月中旬に落選者に送付した。

2. トラブルシューティング集の改訂

昨年度に作成したトラブルシューティング集について、3つの事例及び解決法を追加した(図2(B))。大分類A「ピークが検出されない」においては、小分類として「プラスミドの脱落によるTRが検出されない事例」を新たに追加した。次に、大分類D「非典型的ピークの出現」には、小分類として「ダブルピーク等の複数ピークの判定」に加え、本研修においても確認された現象である「スタンダードピークの根元に小さなピークが立つ現象(図2(A))」を追加した。この現象は、バッファーに取り付けるセプターの汚染、つまり、前の検体を解析時にキャピラリーに付着したサイズスタンダードがセプター内に残留することが原因となり得る。特に、セプター内の特定のスリットが汚染されている場合、そのスリットを経由するキャピラリーにおいては、常に同様の現象が観察されることから、原因推定の手掛かりとなる。

D. 考察

本年度のMLVA法研修会では、参加対象を明確に定めたことで、ニーズの高い研修を実施することができた。講義及び実習を通じて、学習効果の高い指導が行われたが、一部の实習では時間が不足していたとの意見が見られた。そこで、研修終了後にはデータと模範回答を送付する等のアフターフォローを実施し、理解の定着を図った。これら

の結果を踏まえ、時間配分や構成を見直し、今後の研修会に向けた改良版カリキュラムを構築した(表1(B))。

研修会に対して高いニーズの根拠として、全国の地衛研等から24施設の応募があった点が挙げられる。参加条件として、MLVA法の実施経験が3年以内の職員を対象としたが、それにも関わらず多数の応募があったことは、地衛研における人事異動が頻繁に行われている実態を反映している⁴⁾。これは、MLVA法の継続的な技術習得支援が求められていることを示している。

研修後のアンケート結果からは、全ての講義及び実習において「理解できた」「業務に活用できる」との評価が得られ、学習効果の高い指導が実施できたことが確認された。一方で、GeneMapperによる解析や事前に募った質問への対応に関しては、時間が不足していたとの指摘が複数寄せられた。これを受け、補足資料の提供や質疑応答による個別フォローを行い、内容の補完に努めた。事前に収集した質問の内、「ダブルピーク」、「Binから外れたピーク」及び「蛍光強度の低いピーク」の判定の3分類は、いずれもGeneMapperでの解析に関連していた。また、改訂されたトラブルシューティング集に収録された13の事例の大半も、GeneMapperを適切に使用することで原因を推定できる。これらの結果から、地衛研等でのMLVA法の運用では、解析ソフトの操作技術の習得が極めて重要であることが示唆された。

GeneMapper実習(表1(A)、区分:実習④)及び事前質問への回答(区分:実習⑤)については、いずれも理解度及び業務への活用可能性の評価が高く、実習内容自体には大きな問題はなかったと考えられる。一方で、これらの実習については「実習内容が多く、作業時間が足りなかった」との指摘が多数寄せられ、時間配分に課題があることが明らかとなった。特に、GeneMapper実習では、1班3名に対して1台のGeneMapper搭載PCを割り当て、研修生が交代で作業を行った。PCの台数を増やすことでこの問題は一定程度解消可能であるが、メーカー及び感染研内からの借用を試みた結果、確保できたのは最大5台に留まった。このため、ハードウェアの制約を補うために、研修全体の構成を見直す必要が生じた。

そこで、時間配分の改善を目的として、改良版の研修会を構築した(表1(B))。具体的には、1日目にZoomによる講義を集中的に実施し、2日目及び3日目の集合型研修では、講義と並行して十分な実習時間を確保する構成とした。GeneMapper実習(区分:実習④)については、「Panel及びBinのインポート＋サイジング」「Binの修正＋データ解析」「トラブル事例への対応」の三部構成とし、従来の2時間から合計5時間へと大幅に拡充した。また、同様に時間不足の指摘があった事前質問への回答(区分:実習⑤)についても、従来の30分から1時間へと延長し、研修生の理解促進を図った。

本研究班では、GeneMapperの操作や

MLVA法における解析上の課題に対応するため、トラブルシューティング集を作成してきた。これらは実技を伴わないため、技術習得という観点では実習に劣るものの、解析ソフトや機器といったハード面での制約を受けずに活用できる点で、検査精度の向上に有用な教育資材である。特に、地衛研等においては人事異動が頻繁に発生し、経験年数の少ない職員が多く配置される現状がある⁴⁾。そのような状況下では、現場で遭遇するトラブルを自らの経験として蓄積することが難しく、あらかじめ事例と対応策が整理された教材の活用が重要となる。

I. 研究発表

なし

J. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

E. 結論

MLVA法研修会の実施及び研修会後のアフターフォローにより、一定の学習効果がある指導を行えた。アンケート結果を評価したことで、研修会カリキュラムの問題点を明らかにし、改良版カリキュラムの構築に繋げた。また、研修会参加者からMLVA法の日常検査における質問や問題点を募ったことで、トラブルシューティング集を充実させた。

F. 謝辞

本研究の遂行において、終始、貴重なご指導とご助言を賜りました国立感染症研究所 細菌第一部の泉谷秀昌先生に深く感謝申し上げます。また、研修会での講義動画の公開にご尽力いただいております同所感染症危機管理研究センターの吉見逸郎先生ならびに吉松芙美先生にも、厚く御礼申し上げます。本研修会において使用したGeneMapperの借用に際し、サーモフィッシャーサイエンティフィック社のご厚意に深く感謝申し上げます。何より、業務ご多忙の中、本年度のMLVA法研修会に応募、またはご参加くださった地方衛生研究所の先生方に心より感謝申し上げます。

G. 参考文献

- 1) 泉谷ら, 日本食品微生物学会雑誌, 36(1): 10-12, 2019
- 2) Izumiya, et al., Microbiol Immunol, 54: 569-577, 2010
- 3) 厚生労働省, 病原微生物検出情報, 40(5): 83-85, 2019
- 4) 高崎ら, 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業) 総括研究報告書「地方衛生研究所における感染症等による健康危機の対応体制強化に向けた研究」, 1-5, 2022

H. 健康危険情報

なし

(A) 研修会の概要

(B) トラブルシューティング集の改訂

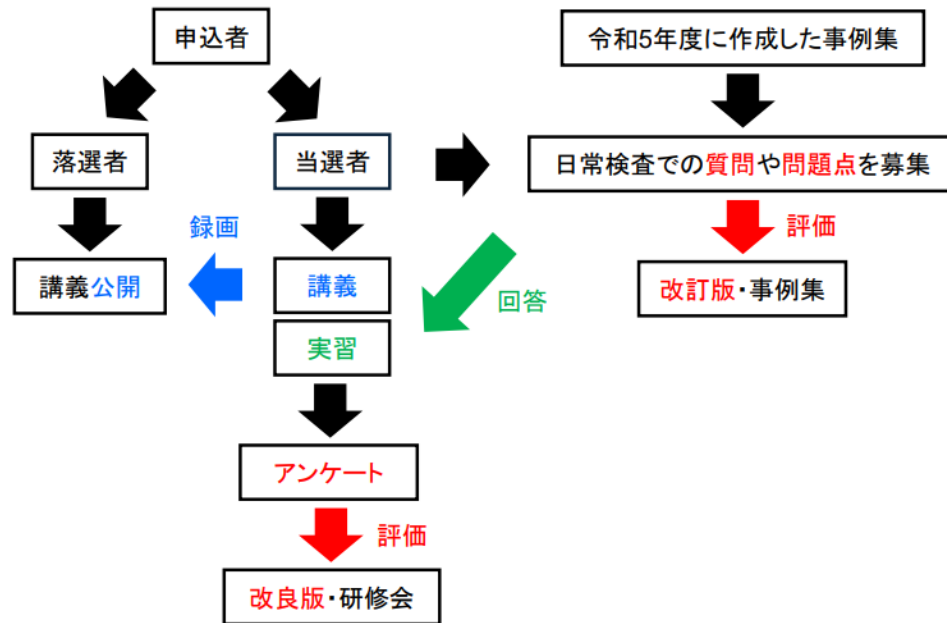
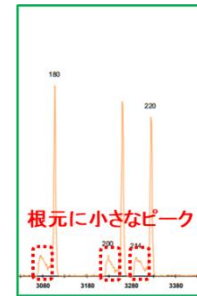
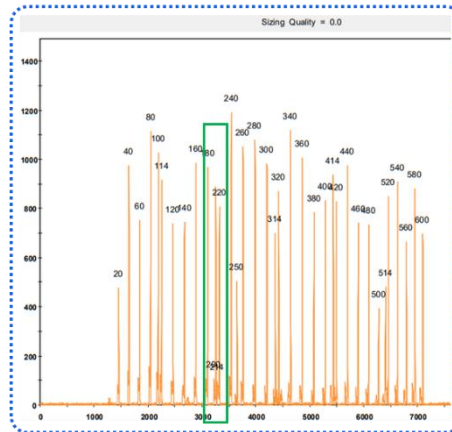


図1 本年度の活動概要

(A) トラブルの一事例



(B) 目次

目次

A : ピークが検出されない

- 1 : 電気泳動時のPCR産物の添加ミス/ PCRミクスチャーへの蛍光標識プライマーの添加ミス
- 2 : PCRの失敗
- 3 : プラスミドの脱落

B : Binにピークが入らない

- 1 : Binファイルの調整不足
- 2 : 電気泳動での移動度の変化
- 3 : タンデムリピート(TR)領域のインデル
- 4 : テイルドプライマーの使用

C : 一部のピークが低い

- 1 : プライマーミクスチャーの状態が悪い

D : 非典型的ピークの出現

- 1 : 他の蛍光標識の影響
- 2 : 原因不明
- 3 : 複数ピークの判断
- 4 : スタンダードピークが割れる

E : 疫学的関連性がない菌株間でのMLVA型の一致

- 1 : 蔓延菌株

図 2 トラブルシューティング集の改訂

(B)の赤点線は追加した事例を示す。

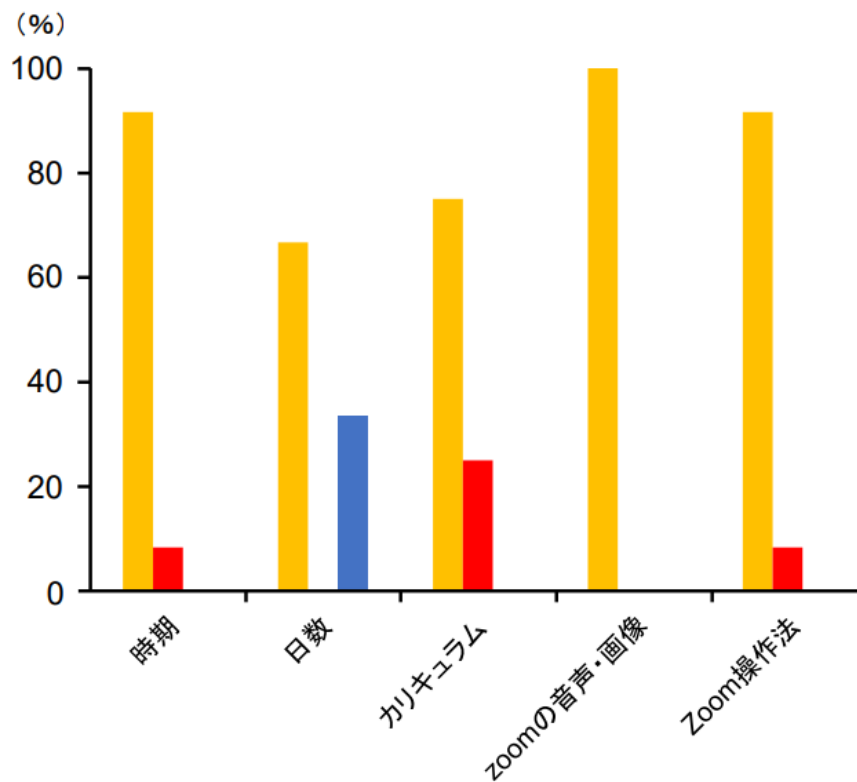
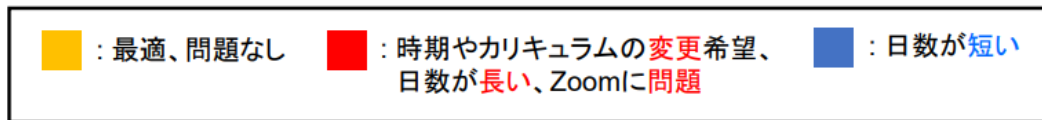
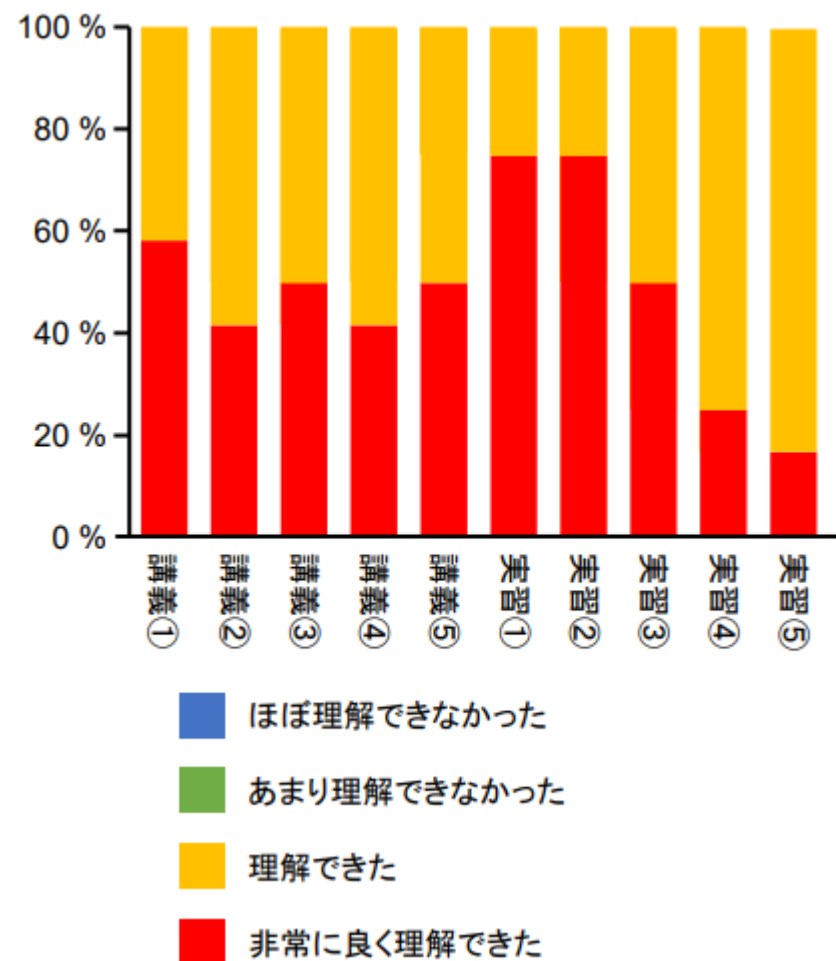


図 3 反復配列多型解析 (MLVA) 法研修会全体における評価

(A)理解度



(B)業務への活用

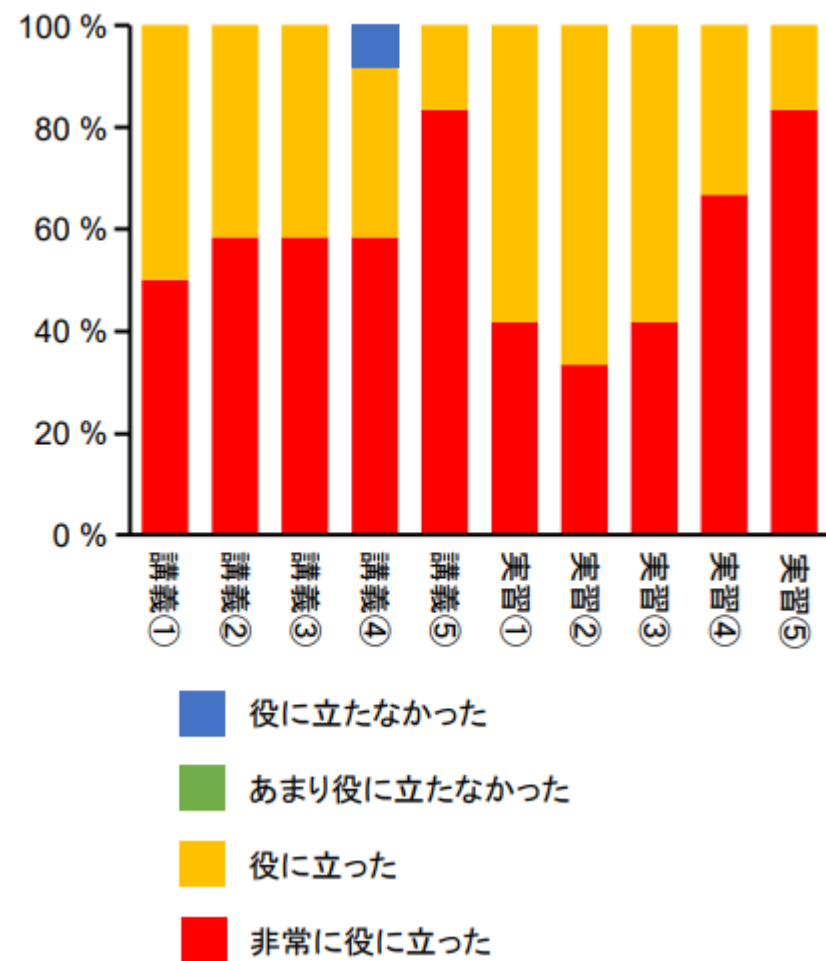
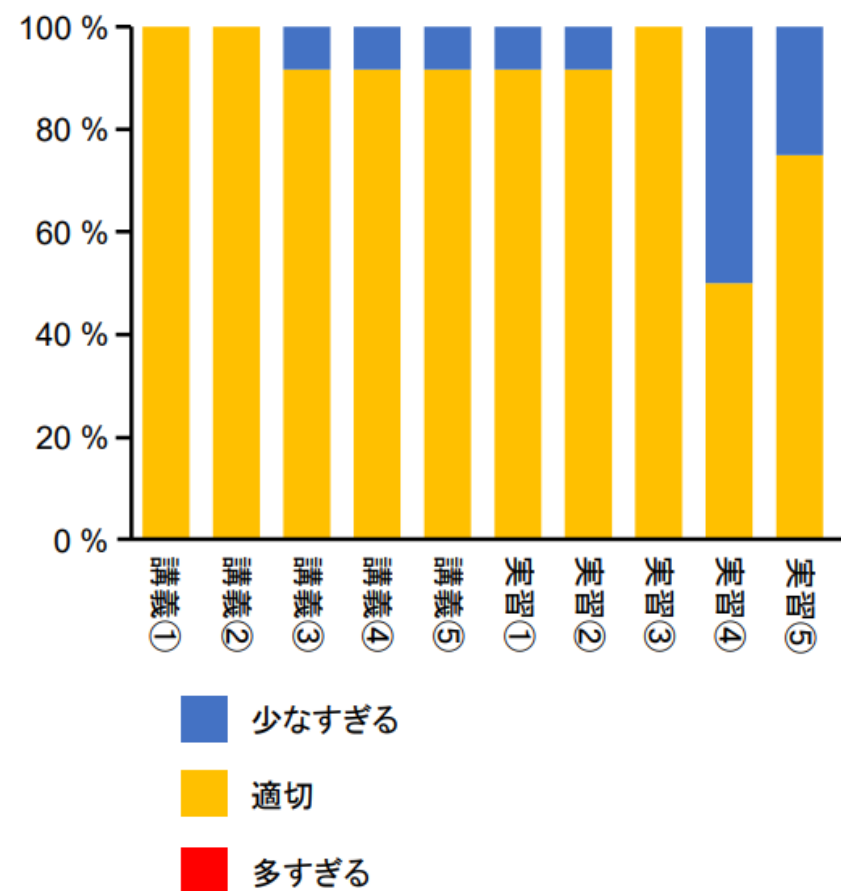


図4 MLVA 法研修会の各講義・実習における評価

横軸に記載されている各棒の下は表1の区分に該当する。

(C) 講義・実習の量



(D) 講義・実習の速度

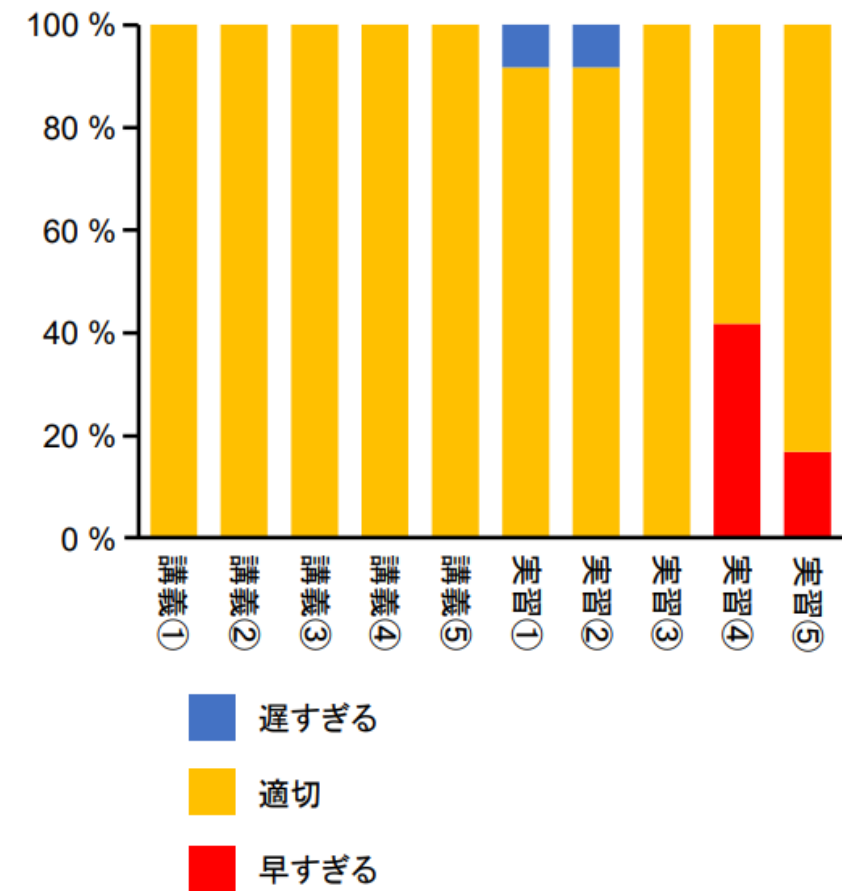


図 4(続き) MLVA 法研修会の各講義・実習における評価

横軸に記載されている各棒の下は表 1 の区分に該当する。

表 1 MLVA 法研修会で実施されたカリキュラム及び改良版カリキュラム

(A)実施したカリキュラム

1 日目: Zoom

時間	区分	題名	内容
13:00-13:05 (5 分)	その他	開会挨拶	-
13:05-13:30 (30 分)	その他	オリエンテーション	-
13:30-15:00 (1 時間 30 分)	講義①	バイオリスク管理	BSL2 施設を利用するための教育訓練
15:00-15:15 (15 分)	その他	休憩	-
15:15-16:15 (1 時間)	講義②	EHEC O157、O26、O111 の MLVA 法	MLVA 総論・各論

2 日目: 集合

時間	区分	題名	内容
10:00-10:10 (10 分)	その他	庁舎利用の説明	-
10:10-11:00 (50 分)	実習①	菌株培養液からの DNA 抽出	DNA 抽出にキレックス樹脂を利用
11:00-12:00 (1 時間)	実習②	PCR 反応	異なるメーカーのマルチプレックス PCR 酵素を使用して比較
12:00-13:00 (1 時間)	その他	休憩	-
<u>13:00-14:00 (1 時間)</u>	<u>講義③</u>	<u>MLVA 法の異同判定^a</u>	<u>MLVA 法の結果の解釈</u>
<u>14:00-14:30 (30 分)</u>	<u>講義④</u>	<u>MLVA 法で使用する代替・解析ツールの紹介^a</u>	<u>MLVA 法のツールの紹介</u>
<u>14:30-15:00 (30 分)</u>	<u>講義⑤</u>	<u>MLVA 法におけるトラブルシューティング^a</u>	<u>MLVA 法でのトラブルと解説法</u>

^a (A)の集合型から(B)の Zoom での講義に変更。下線で表記。

表 1(続き) MLVA 法研修会で実施されたカリキュラム及び改良版カリキュラム

(A)(続き)実施したカリキュラム

2 日目: 集合

時間	区分	題名	内容
15:00-15:20(20 分)	その他	休憩	—
15:20-16:00(40 分)	実習③	PCR 産物の電気泳動	SeqStudio を使用
16:00-16:30(30 分)	その他	質疑応答	—

3 日目: 集合

時間	区分	題名	内容
<u>10:00-12:00(2 時間)</u>	<u>実習④</u>	<u>GeneMapper による MLVA 法データの解析^b</u>	<u>Panel 及び Bin のインポート/ サイジング/ Bin の修正/ データの解析/ トラブル事例への対応</u>
<i>12:00-12:30(30 分)</i>	<i>実習⑤</i>	<i>事前に募集した質問や問題点へ回答^c</i>	<i>日常検査での疑問点を募集</i>

^b (B)では、3 つに分割し、合計 2 時間から 5 時間に増加。二重下線で表記。

^c (B)では、時間を 1 時間に増加。斜字で表記。

表 1(続き) MLVA 法研修会で実施されたカリキュラム及び改良版カリキュラム

(B)改良版カリキュラム

1 日目: Zoom

時間	区分	題名	変更内容
10:00-10:05(5 分)	その他	開会挨拶	開始時間を 10 時に変更
10:05-10:30(30 分)	その他	オリエンテーション	—
10:30-12:00(1 時間 30 分)	講義①	バイオリスク管理	—
12:00-13:00(1 時間)	その他	休憩	—
13:00-14:00(1 時間)	講義②	EHEC O157、O26、O111 の MLVA 法	—
<u>14:00-15:00(1 時間)</u>	<u>講義③</u>	<u>MLVA 法の異同判定^a</u>	<u>Zoom に変更(2 日目から 1 日目に移動)</u>
15:00-15:15(15 分)	その他	休憩	—
<u>15:15-15:45(30 分)</u>	<u>講義④</u>	<u>MLVA 法で使用する代替・解析ツールの紹介^a</u>	<u>Zoom に変更(2 日目から 1 日目に移動)</u>
<u>15:45-16:15(30 分)</u>	<u>講義⑤</u>	<u>MLVA 法におけるトラブルシューティング^a</u>	<u>Zoom に変更(2 日目から 1 日目に移動)</u>

^a (A)の集合型から(B)の Zoom での講義に変更。下線で表記。

2 日目: 集合

時間	区分	題名	変更内容
10:00-10:10(10 分)	その他	庁舎利用の説明	—
10:10-11:00(50 分)	実習①	菌株培養液からの DNA 抽出	—
11:00-12:00(1 時間)	実習②	PCR 反応	—
12:00-13:00(1 時間)	その他	休憩	—

表 1(続き) MLVA 法研修会で実施されたカリキュラム及び改良版カリキュラム

(B)(続き)改良版カリキュラム

2 日目:集合

時間	区分	題名	変更内容
<u>13:00-15:00(2 時間)</u>	<u>実習④</u>	<u>GeneMapper による MLVA 法データの解析^b</u>	<u>3 つに分割し、合計 2 時間から 5 時間に増加 Panel 及び Bin のインポート/サイジング</u>
15:00-15:20(20 分)	その他	休憩	-
15:20-16:00(40 分)	実習③	PCR 産物の電気泳動	-
16:00-16:30(30 分)	その他	質疑応答	-

3 日目:集合

時間	区分	題名	変更内容
<u>10:00-12:00(2 時間)</u>	<u>実習④</u>	<u>GeneMapper による MLVA 法データの解析^b</u>	<u>3 つに分割し、合計 2 時間から 5 時間に増加 Bin の修正/ データの解析</u>
12:00-13:00(1 時間)	その他	休憩	-
<u>13:00-14:00(1 時間)</u>	<u>実習④</u>	<u>GeneMapper による MLVA 法データの解析^b</u>	<u>3 つに分割し、合計 2 時間から 5 時間に増加 トラブル事例への対応</u>
<u>14:00-15:00(1 時間)</u>	<u>実習⑤</u>	<u>事前に募集した質問や問題点へ回答^c</u>	<u>1 時間に増加</u>

^b (B)では、3 つに分割し、合計 2 時間から 5 時間に増加。二重下線で表記。

^c (B)では、時間を 1 時間に増加。斜字で表記。