

インド国 新興下痢症対策プロジェクト 終了時評価報告書

平成 15 年 1 月
(2003 年)

国際協力事業団
医療協力部

医協一
JR
03-19

**インド国
新興下痢症対策プロジェクト
終了時評価報告書**

平成 15 年 1 月
(2003 年)

国際協力事業団
医療協力部

目 次

目 次

序 文

プロジェクトの位置図

写 真

評価調査結果要約表

第1章 終了時評価調査団の概要	1
1-1 調査団派遣の経緯と目的	1
1-2 調査団構成	2
第2章 終了時評価の方法	3
2-1 PDMe	3
2-2 評価項目、情報、データ収集方法	4
2-3 評価ワークショップ	6
第3章 評価概要	7
3-1 総 括	7
3-2 細菌学分野	8
3-3 ウイルス分野	8
3-4 疫学分野	8
3-5 寄生虫分野	9
第4章 評価5項目による評価結果	10
4-1 評価5項目の評価結果	10
4-1-1 妥当性	10
4-1-2 有効性・目標達成度	11
4-1-3 効率性	15
4-1-4 インパクト	16
4-1-5 自立発展性	18
4-2 結 論	18

第5章 提言と教訓	20
5-1 提言	20
5-2 教訓	20

付属資料

1. 調査日程	23
2. 主要面談者	24
3. ミニッツ	26
4. プロジェクトの投入実績	48
5. 終了時評価ワークショップ発表資料	60
6. 終了時評価ワークショップ発表資料(日本語訳)	69

序 文

インド新興下痢症対策プロジェクトは、インドにおいて高い乳幼児死亡率の原因となっている急性下痢症疾患の対策を担うべく、下痢症疾患研究の中核的役割を担う国立コレラ・腸管感染症研究所 (NICED) を拠点とした分子生物学・疫学分野の人材養成、研究施設の整備、共同研究の推進強化を図ることを目的として、平成10年2月1日から協力が開始されました。

このたび、国際協力事業団は、本件実施に係る討議議事録に基づく協力期間が、平成15年1月31日をもって終了するのに先立ち、これまでの協力内容などの評価を実施し、本分野における協力への提言を行うため、平成14年9月1日から9月15日までの日程で、実践女子大学生生活科学部教授 竹田 美文氏を団長として、終了時評価調査団を派遣しました。

本報告書は、上記調査の結果を取りまとめたものです。ここに本調査にご協力を賜りました関係各位に深甚なる敬意を表します。

平成15年1月

国際協力事業団
理事 松岡和久

プロジェクトの位置図





国立コレラ・腸管感染症研究所



研究者による成果発表



プロジェクト評価に関する協議



日本人医師団による
西ベンガル州立感染症病院視察



ミニッツ署名

(左から、Dr. Tripathy, Dr.Ganguly,
Dr.Takeda, Dr.Bhattacharya, Mr.Jha)

評価調査結果要約表

1. 案件の概要			
国名：インド		案件名：新興下痢症対策プロジェクト	
分野：保健・医療		援助形態：プロジェクト方式技術協力	
所轄課：医療協力部医療協力第一課		協力金額：4億9,000万円	
協力期間	1998年2月1日～2003年1月31日	先方関係機関：国立コレラ・腸管感染症研究所(NICED)	
		日本側協力機関：国立感染症研究所、国立国際医療センター、札幌医科大学、大阪府立大学、等	
		他の関連協力：特になし	
1. 協力の背景と概要			
<p>インドでは乳幼児死亡率が高く、死亡原因の第1位が急性下痢症疾患である。下痢症疾患が蔓延している要因の一つとして、その予防・診断・治療の技術が不十分であることがあげられる。特に予防対策については薬剤耐性赤痢菌の出現もあることから、下痢症対策が急務である。同国における下痢症疾患研究の中核的役割を担うコルカタの国立コレラ・腸管感染症研究所(NICED)は、各種下痢症の研究・予防・治療法の開発を行っており、世界保健機関(WHO)からも協力機関として指定されている。インド政府は、同研究所を拠点とした分子生物学・疫学の人材養成、研究施設の整備、共同研究の推進等の下痢症対策を目的とした技術協力を日本に要請し、本プロジェクトの実施に至った。</p>			
2. 協力内容			
(1) 上位目標			
下痢症疾患の予防法・治療法が改善される。			
(2) プロジェクト目標			
NICEDにおいて新興下痢症の対策技術が開発され、確立される。			
(3) 成果			
1) 分子生物学的レベルの効果的な下痢症診断技術が開発される。			
2) 急性・慢性下痢症治療法の新方針が開発される。			
3) 下痢症患者血清バンクが確立される。			
4) 腸管内病原微生物の薬剤耐性が研究される。			
5) 腸管病原体の菌株及び診断血清の保存施設が整備される。			
6) ヒト及び水域における腸管病原体の疫学的監視体制が確立される。			
7) 関連病院のネットワークが確立される。			
8) プロジェクトが円滑に運営される。			
(4) 投入			
〈日本側〉			
長期専門家	72人/月	機材供与	2億5,200万円
短期専門家	19.36人/月	ローカルコスト負担	2,000万円
第三国研修	1名		
第三国専門家	2名		
研修員受入れ	12名		
〈インド側〉			
カウンターパート(C/P)配置 土地・施設提供 機材購入 ローカルコスト負担 その他			
2. 評価調査団の概要			
調査者	担当	氏名	所属
	団長 / 総括	竹田 美文	実践女子大学生生活科学部教授
	基礎医学	林 英生	筑波大学基礎医学系教授
	協力計画	定本 ゆとり	国際協力事業団医療協力部医療協力第一課
	プロジェクト評価	竹 直 樹	アイテック株式会社
調査期間	2002年9月1日～9月15日		評価種類：終了時評価

3. 評価結果の概要

1. 評価結果の要約

(1) 妥当性

本プロジェクトは、NICEDがある西ベンガル州の保健ニーズ、インドの保健政策、及び日本の協力方針に沿ったものであり、評価時点においても妥当性は高いと判断される。

(2) 有効性

本プロジェクトは、NICEDにおける施設整備、人材養成、共同研究推進を通じて、インドにおける下痢症対策技術の確立をめざすものであった。プロジェクトの実施により、遺伝子核酸増幅法(PCR)をはじめとする様々な技術が確立された。目標のうち、これらの部分についてはおおむね達成されたといえる。しかし成果の2)の、「急性・慢性下痢症治療法の新方針が開発される」については、これから着手しなければならない部分である。

(3) 効率性

機材供与及び研修員派遣等に係る手続きに長い時間を要したことで、本プロジェクトの効率性が失われた点是否定できないものの、比較的少ない投入量(専門家派遣数など)で多大な成果を得たこと、日本における研修に十分な時間をかけたこと、NICEDにおいて頭脳流出が起こっていないこと(C/P研修生は全員プロジェクトにとどまっている)等を考慮すると、プロジェクトの効率性は十分に高いものと思われる。

(4) インパクト

本プロジェクトはNICEDの研究能力向上に焦点が置かれ、その成果が地域住民に及ぶにはなお時間を要するが、能力向上が現地国内研修の実施や、インド各地で起こったコレラ集団発生への迅速な対応を可能にするなど、プロジェクト実施により多くのインパクトを得ることができた。また、C/Pが米国サイエンスアカデミーの外国人理事に選出されたことは、本分野における最大のインパクトであったといえる。

(5) 自立発展性

自立発展性を財政面・人材面から検討すると、インド医学研究評議会(ICMR)から現在のレベルのコミットメントがあれば、十分に自立発展性は保証される。NICEDは供与機材の維持管理、試薬・消耗品の購入を問題なく行っており、電子顕微鏡等の高額機材も購入が可能となっている。また、現在のNICEDの研究環境が確保される限り、日本で研修を受けたNICED研究者が離れることは考えにくい。

2. 効果発現に貢献した要因

(1) 計画内容に関すること

- 1) 日本での研修に長い時間をかけて、研修員の新技术・知識の習得を行ったこと。
- 2) 研修員が全員NICEDに戻り、研究活動を継続しているだけでなく、帰国後も受入先との連絡を密にしていること。

(2) 実施プロセスに関すること

- 1) 開発課題(下痢症対策の改善)に対する研究者間の共通理解の下、技術移転がなされたこと。
- 2) 供与機材の維持管理が問題なく行われていること。

3. 問題点及び問題をひき起した要因

(1) 計画内容に関すること

- 1) 治療法の新方針の開発については、5年間で活動を開始する体制を整えられなかったこと。

(2) 実施プロセスに関すること

- 1) 研修員派遣・機材供与等に係る手続きに非常に時間が掛かったこと。
- 2) チーフアドバイザーが長期間不在であったこと。

4. 結 論

本プロジェクトは、地域のニーズ及び保健政策に沿い、比較的少ない投入量で多くの成果を得、下痢症対策のための新技術を NICED に確立することに成功したという点において、プロジェクト目標の大部分は達成されたといえる。しかし、今後は上位目標に直結する活動を開始していく必要がある。

5. 提 言

今後は、5年間で得られたプロジェクトの成果をいかにして地域住民にもたらすかを計画し、実施することが求められる。

また、研究の成果を発表するだけでは、その専門外の人にとってはプロジェクトの成果を理解するのは非常に困難である。したがって、本プロジェクトが開発協力として、インドの下痢症対策にどのように位置づけられるのか、援助を必要としている人にどのように成果が届くのかを、分かりやすく日本国民に伝えるという広報努力が求められる。

6. 教 訓

本プロジェクトが多大な成果を得るに至った要因は、インドの下痢症対策の強化という目標に対する日本-インド相互の理解にあり、これは双方の信頼関係・友好関係に裏打ちされたものである。いかなる分野においても、C/Pとの関係構築は、よりよい未来をめざすための特別な取り組み、すなわち「プロジェクト」の基本である。本プロジェクトはこのことを改めて示したといえる。

第1章 終了時評価調査団の概要

1-1 調査団派遣の経緯と目的

インドでは、乳幼児死亡率が1,000人中79人と今日においても世界的に高水準にあり、その第一の死亡原因は、細菌やウイルスによる下痢症である。下痢症疾患が蔓延している要因の一つとして、その予防・診断・治療の技術が不十分であることがあげられる。同国における下痢症疾患研究の中核的役割を担うコルカタの国立コレラ・腸管感染症研究所(NICED)は、各種下痢症の研究・予防・治療法の開発を行っており、世界保健機関(WHO)からも協力機関として指定されているが、新型コレラ菌 O139 や、薬剤耐性赤痢菌の出現に伴い、これらに危機感を募らせたインド政府は、我が国に対して、NICED を拠点とした分子生物学・疫学の人材養成、研究施設の整備、共同研究の推進等の下痢症対策を目的とした技術協力を要請した。これを受けて、1998年2月より5年間の「インド新興下痢症対策プロジェクト」が開始された。プロジェクトの概要は以下のとおりである。

(1) 上位目標

下痢症疾患の予防法・治療法が改善される。

(2) プロジェクト目標

NICED において新興下痢症の対策技術が開発され、確立される。

(3) 成果

- 1) 分子生物学的レベルの効果的な下痢症診断技術が開発される。
- 2) 急性・慢性下痢症治療法の新方針が開発される。
- 3) 下痢症患者血清バンクが確立される。
- 4) 腸管内病原微生物の薬剤耐性が研究される。
- 5) 腸管病原体の菌株及び診断血清の保存施設が整備される。
- 6) ヒト及び水域における腸管病原体の疫学的監視体制が確立される。
- 7) 関連病院のネットワークが確立される。
- 8) プロジェクトが円滑に運営される。

本調査は、2003年1月末に協力期間の終了を控え、次に従い、終了時評価を行うことを目的とし、実施された。

(1) プロジェクトの開始時から現在までの、プロジェクト活動実績について整理し、評価5項目の観点から関係者と討議、分析のうえ、評価を実施する。

(2) 目的の達成度を判定し、今後の協力量針に監視、先方と協議する。

(3) 評価結果から、今後の協力のあり方や実施方法の改善に役立つ教訓や提言を導き出す。

1-2 調査団構成

担 当	氏 名	所 属
団 長 / 総 括	竹 田 美 文	実践女子大学生生活科学部教授
基 礎 医 学	林 英 生	筑波大学基礎医学系教授
協 力 計 画	定 本 ゆとり	国際協力事業団医療協力部医療協力第一課
プロジェクト評価	竹 直 樹	アイテック株式会社

第2章 終了時評価の方法

2-1 PDMe

本終了時評価調査は、プロジェクト・サイクル・マネージメント (Project Cycle Management : PCM) 手法をベースに行われた。この手法では、プロジェクト管理のための要約表であるプロジェクト・デザイン・マトリックス (Project Design Matrix : PDM) を基に評価を行う。

1998年1月8日署名の討議議事録 (Record of Discussions : R / D) に添付された PDM 最初の PDM (PDM₀) とし、これを以下の点から見直して評価用の PDM (PDMe) を作成した。

- ① プロジェクト要約 (Narrative Summary) を表す指標が適切か
- ② 外部条件が適切か
- ③ プロジェクト要約の各要素の因果関係が適切か

PDM₀ からの主な変更点は、表-1のとおりである。

表-1 PDM₀ から PDMe への主要な変更点

No	変更箇所	変更前	変更後	変更理由
1	プロジェクト要約 (上位目標)	Improvement of preventive and therapeutic methods for diarrhoeal diseases	左記文書に in the Target Area を追加。	プロジェクトがカバーする地域がどこかを明確にする必要があったため。PDM の欄外からコルカタと判断し、“in the Target Area” を加筆した。
2	上位目標の指標	1. Mortality rate 2. Morbidity rate	1. No. of vaccination in the Target Area	死亡率及び罹患率は、Overall Goal の達成というよりは、達成されたあとにもたらされるものと判断した。また、本プロジェクトがコレラワクチンの開発・試験的投与をめざしていることを勘案すると、予防接種数が指標として考えられる。
3	上位目標の指標入手手段	1. National health statistics 2. State health statistics 3. Annual reports about the current health situation	左記 1. を削除	本プロジェクトの Target Area は州であり、州保健統計で十分賄えると判断したため。
4	上位目標の外部条件	1. Government policy will not be changed. 2. New therapeutic methods will be extended to other institutes.	1. Government policy will not be changed. 2. No natural disaster happened. 3. Access to safe water and food improved.	変更前の 2. は、プロジェクト目標の外部条件である “Government relies on new therapeutic method.” と同義であると判断し、削除した。自然災害については、死亡率・罹患率改善の外部条件となり得ても、予防法・治療法改善の外部条件にはなり得ないと判断し、プロジェクト目標から上位目標へ移動させた。

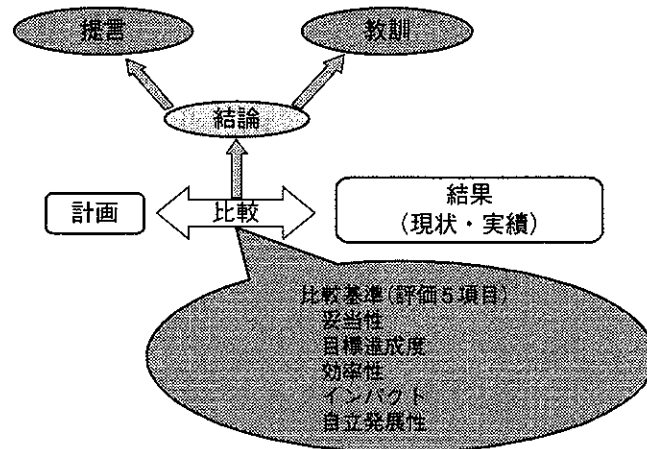
5	プロジェクト 目標の指標	1. No. of scientific papers 2. No. of vaccine candidate strains 3. No. of trials on safety of developed vaccines 4. No. of animal model trials	左記4項目をそのまま残し、“Comparing situation before Project with current situation from several views such as:”を加筆。	プロジェクトの評価は実施前と実施後の比較が基本であることをより明確にするため。
6	プロジェクト 目標の外部条件	1. No natural disaster happened.	上位目標の外部条件に移動。	項目4「上位目標の外部条件」で述べたとおりである。
		2. Government relies on new therapeutic method.	State Government relies on new therapeutic method.	本プロジェクトのTarget Areaは州であるため。
		3. Epidemic investigation is performed at national level.	削除	本プロジェクトは国全体をTarget Areaとしていないため不要と判断。
		4. Constant accuracy of statistics	変更なし。	
7	成果の指標	1. No. of clinical trials 2. No. of pilot projects 3. No. of investigating epidemics 4. No. of papers published 5. No. of presentations 6. No. of collaborative works among divisions 7. No. of characterized strains 8. No. of developed diagnostic tests 9. No. of newly developed methods 10. No. of referral service extended	左記10項目をそのまま残し、“Comparing situation before Project with current situation from several views such as:”を加筆。	項目5「プロジェクト目標の指標」と同様。

2-2 評価項目、情報、データ収集方法

現地における情報収集については、日本側の長期専門家・調整員、及びNICEDの所長・研究者に対する聞き取り及び資料収集・分析を通じて行われた。次に、西ベンガル州保健省との協議を経て、後述する評価ワークショップをNICEDにて行った。その後デリーへ移動し、保健省及び大蔵省経済局と協議を行った。

PCM手法による評価は、プロジェクトの「前」と「後」でどう変わったかの比較が基本であるが、本評価調査においては、プロジェクト計画当時に描いていた理想像と現実の比較も試みた。本プロジェクトは、数値で表される指標により評価を行うのが非常に困難であるため、これら2点を重視した。

評価を通じて得られた結論を基に、よりよい方向に向けた提言・教訓を導き出した。



出典：FASID (2000) 『PCMに基づくモニタリング・評価』第3版、p.19

図一 1 PCM手法による評価

PCM手法に基づく評価項目は、以下の5点である。

(1) 妥当性 (Relevance)

- 1) プロジェクトが、地域のニーズに適合しているか。
- 2) プロジェクトがインド(若しくは西ベンガル州)側の政策に位置づけることができるか。
- 3) プロジェクトが、日本の協力方針と合致しているか。

(2) 有効性・目標達成度 (Effectiveness)

- 1) プロジェクト目標及び成果がどの程度達成されたか。すなわち、新興下痢症対策のための技術がどの程度確立されたか。

(3) 効率性 (Efficiency)

- 1) プロジェクトの投入が、成果にどれだけ転換されたか。
- 2) 投入のタイミングからみて効率性はどうか。

(4) インパクト (Impact)

- 1) プロジェクトの実施により、直接的若しくは間接的にどのようなインパクトが得られたか(正負問わず)。

(5) 自立発展性 (Sustainability)

- 1) プロジェクト終了後もその効果が持続する見通しがあるか(主に財政、技術の側面から)。

2-3 評価ワークショップ

評価ワークショップは9月10日、NICEDにて州保健省担当官、インド医学研究評議会 (Indian Council of Medical Research : ICMR)、NICED 所長及び研究者、プロジェクトスタッフ等を集めて行われた。

ワークショップでは、まず NICED 各部 (微生物学、ウイルス学、疫学、寄生虫学、臨床医学、病態生理学、免疫学、電子顕微鏡学) の代表者がプロジェクトによる投入の成果として、5年間の研究実績を報告し、続いて日本で研修を受けた研究者が研修内容、及び帰国後の研究活動について発表を行い、それぞれに対して意見の交換を行った。

その後、ワークショップに先だって行われた調査結果をまとめた評価報告書案を調査団から報告し、参加者がそれに対するインプット及び意見交換を行った。なお、報告書案の取りまとめは、現地コンサルタント (Dr.Tripathy) と合同で行われた。

第3章 評価概要

3-1 総括

NICEDは、プロジェクトの実施期間中、ICMRに属する21の研究機関のなかで、優良研究所 (Center of Excellence : COE) に選出された。これは、プロジェクトによる人材育成と、機材供与等によるセンターの機能拡充が大きく寄与していることは間違いない。また、インド各地で頻発する集団の下痢症発症に対して迅速に調査を実施し、原因究明に努めるなどの活動から、コレラ・関連下痢対策の拠点として疾病診断・監視・制圧センターの地位を確立し、西ベンガル州のみならず、インド全土の医療従事者からその信頼を得てきた。

プロジェクトを実施してきた5年間の間に公表された研究論文は、質・量ともに、それ以前に比して格段の飛躍があり、研究所員も自信を強めてきている。その成果は、現地国内研修の実施という形で現れ、最新の分子レベルに基づく病原菌の検出法や遺伝子増幅法 (Polymerase Chain Reaction : PCR)、リボタイピング (Ribotyping)、パルスフィールドゲル電気泳動 (Pulsed-Field Gel Electrophoresis : PFGE) 等の分子疫学的手法の理論から実践に至る研修内容で、参加者の好評を博している。また、この研修の結果、NICEDとインド各州の医療機関・医療関係者との信頼に基づくネットワークも構築されつつある。このネットワークは、情報の共有や下痢症などが流行したときに、直接現場とNICEDを結ぶ絆となり、より迅速な対応を可能とし、結果として小児の死亡率の低下に貢献することが期待される。さらに、バングラデシュのICDDR, Bや、タイのマヒドン大学熱帯医学部などと協調しながら、国際的なコレラ・関連下痢症の研究センターとしても順調に発展してきており、2002年度からアジアのみならず、アフリカも対象とした第三国研修を開始予定となっており、今後、NICEDが、下痢症のグローバルネットワークの拠点となっていくことも十分期待できるであろう。

また、日本で実際の患者に接する機会のない日本人医師が、各種感染症の臨床研修を行える場所としても機能しており、これまでに、厚生労働省を通じて、医師の派遣が行われている。今後、国境を越えて広がり得る感染症について、日本の医師が実体験できることは貴重なことであり、今後もこのようなニーズは深まっていくものと思われる。

NICEDのスタッフは、日本で研修を受けたことにより、研究技術の習得のみならず、日本文化に接触したことも影響し、全体的な意識が向上して研究活動にも活力が感じられるようになった。研修を終えてインドに帰国したあとも、日本の研究者との交流を続けることにより、新たな研究の成果が見いだされたり、モチベーションを保つことが可能となっており、帰国後のC/P研修員のNICEDにおける定着率は100%を保っている。またNICEDの中心的人物であるDr. G. B. Nairが、アメリカ学士院 (National Academy of Sciences USA) の外国人理事 (Foreign Member) に選ばれ

たことは、プロジェクトの成果として、特筆すべきことである。

研究所内部は、高温多湿ながらも、自助努力による改装や部分改築を重ね、明るく清潔感が漂うようになり、機器の維持・管理状態も良好であった。これらの背景には、日本がプロジェクトで支援している NICED に対し、その統括機関である ICMR の期待が予想以上に大きく、インド側の予算措置が拡大に伸びたことがあげられる。ICMR は、インドにおける医学研究、医学行政にかかわる意思決定へ、極めて強い指導力と影響力を発揮している。その役割と権力を十分認識し、その絶大な支援の下で本プロジェクトがあげた成果を評価する必要があるだろう。

今後は、プロジェクトの成果である、向上した細菌学・分子生物学分野の確定診断技術の臨床の現場へのフィードバック、これから更に増加が予想される多罪耐性菌対策の拡充、そしてコレラワクチントライアルへの側面支援などが日本に期待されている。

3-2 細菌学分野

コレラ菌、腸炎ビブリオ菌、腸管出血性大腸菌などの細菌学的な研究は、発表論文の質から明らかのように、新しい発見と理論展開があり、専門分野の科学に確実に貢献している。具体的には、下痢症原因微生物をより正確に、高感度に検出できるようになったことにより、正確な疫学情報を得ることが可能となった。その結果、腸管出血性大腸菌や CDT 産生性大腸菌のように、今までは見過ごされていた病原菌の重要性も明らかになりつつある。プロジェクトの継続により、更に現在、分離同定されていない新たな病原菌を明らかにすることが可能となる。

また、コレラ流行の監視体制、新型流行予測の監視体制などが確立し、検査及び対策・予防センターとして一般社会の衛生行政へ積極的に参画・貢献し、ベンガル州及び全インドから感謝されながら、高い評価を受けている。

プロジェクト実施期間中に、細菌学担当であった副所長がバングラデシュの ICDDR,B へ転出したが、後任が研究グループをよくまとめて統括している。ICDDR,B は下痢症研究において重要なパートナー機関であり、副所長の ICDDR,B への転出は本プロジェクトの成果であるともいえる。

3-3 ウィルス分野

ロタウイルス A 型、B 型の同定と流行の監視、新しい変異株の発見など、質の高い効果をあげている。我が国で研修を受けた主任を中心に、ロタウイルスの変異株の分離・同定、下痢原因ウイルス、仮氏ウイルスの同定など、優れた業績を上げている。研修先の日本の研究者との連携もよく、フォローアップも十分行われている。

3-4 疫学分野

経口補液成分の検討、低栄養児の治療にアエン・イオンの添加の効果など、臨床治療に即した

研究を行っている。しかし指導者の不足により、研究内容はやや低調である。

3-5 寄生虫分野

下痢原因のエントアメーバー、ジアルジアの新しい診断法を開発しているが、実用化は経済的に難しいと思われる。腸管感染寄生虫の研究を、分子生物学的な方向で展開しようとしているが、フィールドに適したサーベイランスシステムなどの構築が望まれる。

電子顕微鏡の研修を受けた研修生の理解力、応用力は評価に値するものの、専門家による技術移転の投入が微少だったこともあり、今後の活動に期待したい。

第4章 評価5項目による評価結果

4-1 評価5項目の評価結果

4-1-1 妥当性

以下の3点から検証した結果、終了時評価の段階においても本プロジェクトは妥当性をもつものと判断される。

- (1) プロジェクトが、地域のニーズに適合しているか。
- (2) プロジェクトがインド(若しくは西ベンガル州)側の政策に位置づけることができるか。
- (3) プロジェクトが、日本の協力方針と合致しているか。

(1) 地域ニーズとの適合性

西ベンガル州の保健統計によると、下痢症患者の数は報告されているだけでも100万人を超えており、1,000人以上が死亡している(表-2)。同州では依然として下痢症が罹患・死亡ともに第1位の感染症であり、その対策が急務であることに変わりはない。NICEDに隣接する感染症病院においても、コレラを含めた下痢症患者数がほとんどを占める状況である。

表-2 Reported cases and deaths due to communicablediseases, West Bengal in 2000

	Patients treated	Deaths (IPD only)
1 Acute Diarrhoeal Diseases	1,019,327	1,103
2 Acute Respiratory Infection	510,463	300
3 Pulmonary Tuberculosis	72,457	1,088
4 Pneumonia	70,518	790
5 Enteric Fever	29,156	71
6 S.T.D.	13,065	0
7 Measles	12,143	33
8 Viral Hepatitis	5,831	157
9 Meningococcal Meningitis	2,958	643
10 Whooping Cough	2,808	5
Total	1,738,726	4,190

出典：Health on the March, West Bengal 2000-01, State Bureau of Health Intelligence, Directorate of Health Services, Government of West Bengal

本プロジェクトは、NICEDの研究能力を向上させることを通じて下痢症の罹患を抑制するという地域ニーズに応えることを意図していると考えられる。

(2) インドの政策における位置づけ

インド保健家族福祉省は2002年、約20年ぶりとなる新しい保健政策(National Health Policy- 2002 : NHP-2002)を発表した。それによると、20年の間にギニアウォーム症、ポリオ、天然痘等の撲滅を達成し、乳児死亡率の低下がみられた一方で、マラリア、結核に加え、コレラ、腸チフス、A型及びE型肝炎といった水に起因する感染症において、依然として高い罹患率を示していることを指摘している。

そのうえで、NHP-2002は2010年までにこれらの感染症による死亡率を半分にすることを掲げ、それぞれの疾病の罹患率を抑えるべくプログラムを継続するとしている。したがって、本プロジェクトはこの点に対する貢献をめざしたものといえる。

またNHP-2002は、効果的な治療法やワクチンの確立に焦点をしばったヘルスリサーチの強化、及びコレラをはじめとする感染症の大量発生に備えたサーベイランスネットワークの強化をめざすとしている。本プロジェクトはこれらの点にも資するものであると考えることができる。

プロジェクト実施機関であるNICEDは、ICMRの下にある研究機関である。ICMRの研究分野では、感染症研究は高い優先順位が与えられている。また、ICMRが定めている研究方針(National Health Research Policy)においても、微生物学、分子生物学といったNICEDに存在する分野の研究を奨励している。本プロジェクトは、ICMRの研究方針にも合致している。

(3) 日本の協力量針との整合性

2000年の九州・沖縄G8サミットにおいて、感染症・寄生虫症が開発の重要課題としてとりあげられた。日本は議長国及び主要ドナーとして、2000年度から5年間にわたって総額30億米ドル分の協力を感染症・寄生虫分野に対して実施する「沖縄感染症イニシアティブ」を発表するなど、感染症分野全般に対する協力を推進している。本プロジェクトもこの方針に沿うものと判断できる。

4-1-2 有効性・目標達成度

有効性・目標達成度(Effectiveness)に関する評価は、プロジェクト目標及び成果の達成度により行われた。

(1) プロジェクト目標の達成度

「プロジェクト目標」は、「NICEDに新興下痢症の対策技術が確立される」ことであった。完全に確立されたというには更に時間を要するところではあるものの、プロジェクトを通

じて NICED の各部署において確立され、日常的に使用されている技術は以下のとおりである。

- 1) 遺伝子増幅法 (Polymerase Chain Reaction : PCR)
- 2) RT-PCR
- 3) リボタイピング (Ribotyping)
- 4) ジェノタイピング (Genotyping)
- 5) パルスフィールドゲル電気泳動 (Pulsed-field Gel Electrophoresis : PFGE)
- 6) フィンガープリンティング (Fingerprinting)
- 7) 遺伝子クローニング及びシーケンシング (Cloning and sequencing of genes)
- 8) 免疫組織化学的技術 (Immunohistochemical techniques)
- 9) FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter)
- 10) PCR-ELISA
- 11) Tissue Perfusion Studies
- 12) Technology for toxin purification system

これらの技術により、以下のとおり一段高レベルな研究が可能となった。

- 1) コレラの分子疫学

Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) -PCR、リボタイピング、PFGE が研究で利用された。

- 2) 腸炎ビブリオ世界流行株の検出

tdh 耐熱性溶血菌遺伝子の検出、及び ORF-8 検出において、Group-specific PCR が用いられた。検出された 2 種類の血清型 (O4 : K68 及び O1 : KUT) が、日本を含め複数の国でも新興病原体として認められた。

- 3) 下痢原性大腸菌 (Diarrhoeagenic *E. coli* : DEC) の検出

PCR 法に基づく DEC 分析法が、初めて NICED のサーベイランスシステムに用いられた。これにより、以下の大腸菌の検出が可能となった。

- ・ 毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli* : ETEC)
- ・ 腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli* : EPEC)
- ・ 腸管組織侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli* : EIEC)
- ・ 腸管出血性大腸菌 (enterohaemorrhagic *E. coli* : EHEC)
- ・ 腸管凝縮付着性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli* : EAggEC)

- 4) 志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga-toxin Producing *E. coli* : STEC) の分子学的特性分析
PCR法を通じて、*eae*、*stx*等の染色体上の病原遺伝子、*KatP*、*hlyA*、*etpD*、*etpP*といったSTECCのプラズミド上の遺伝子が検出された。
- 5) 腸管病原体の薬剤耐性
従来の感受性テストを用いて、頻用抗生物質に対する腸管病原体の薬剤耐性が、下痢症入院患者からの分離株でモニターされた。薬剤耐性パターンの理解は、コレラ及び赤痢のマネージメントにおける抗生物質の適正使用に有益である。
- 6) RT-PCR法を用いたロタウイルス検出
1998年、コルカタの成人下痢症患者からB群ロタウイルスがRT-PCR法により検出された。これは、1982年に中国で起きた数万人規模の発生以来のことである。
- 7) 下痢症集団発生に伴う腸管病原体の分子学的型判定
集団発生した下痢症患者からの分離株により、RAPD-PCR、リボタイピング、PFGEを用いた分子学的型判定が行われた。
- 8) PCR法によるジアルディア旋毛虫症の鑑別診断
現在、便猷体よりジアルディア旋毛虫症の鑑別診断がPCR法を用いて日常的に行われている。
- 9) 赤痢アメーバ原虫のコラーゲン分解酵素に関する研究
コラーゲン分解酵素は電子顕微鏡を用いて検出された。純化濃密顆粒の抗体が産生された。コラーゲン酵素をコード化した遺伝子の増幅、赤痢アメーバ原虫のmRNAの特性分析が行われた。
- 10) 耐熱性エンテロトキシンに関する研究
*fura-2 fluorescence*のクエンチング(消光計測)を用いて、non-O1型コレラ菌がもつ耐熱性エンテロトキシンの役割が研究された。
- 11) ヒトカリシウイルス、アストロウイルス、アデノウイルスの検出
RT-PCR法を用いて、東インド地域で初めてヒトカリシウイルス、ヒトアストロウイルス、アデノウイルスが検出された。
- 12) 下痢症治療法の改良に関する研究
栄養失調児に対する蔗糖ベース経口補水液(Oral Rehydration Solution : ORS)、及びhypo-osmolar経口補水液の有効性が研究された。また、低体重児に対しては亜鉛の投与が有効であることが判明した。アジスロマイシン等、新しい抗生物質のコレラ治療に関する有効性の評価も行われた。

(2) プロジェクト成果とプロジェクト目標の関連性

1) コレラ集団発生の調査

インドでは1998年以来、西ベンガル、オリッサ、グジャラート、ケララの各州において、スーパーサイクロンや洪水も起因したコレラの集団発生が起こっている。NICEDの研究者は保健省の依頼を受けて、これらの調査及び適切な対応に関する助言を行った。

2) 腸管病原体の分子学的特性の解明

- a) コレラ毒素遺伝子をもつ CTX phi の第3の対立遺伝子を発見した。
- b) O139 コレラ集団発生以降の O1 型コレラの新クローン出現を確認した。
- c) 腸炎ビブリオ世界流行株である O3 : K6 株、O4 : K68 株、O1 : K125 株、O1 : KUT 株を検出した。
- d) コレラ菌、腸炎ビブリオ、大腸菌といった腸管病原体の PCR ベースの分析が行われた。
- e) B 群ロタウイルスが成人より検出された。
- f) B 群ロタウイルス遺伝子増幅のためのプライマーが、世界で初めてデザインされた。

3) 新興下痢症の新治療アプローチ開発

- a) 臨床研究の結果、亜鉛、亜鉛 + ビタミン A、微量栄養素 + ビタミン群が、ORS の付加物として栄養失調児の急性水様性下痢症による脱水に有効であることが判明した。
- b) 子どものコレラ治療において、アジスロマイシンがエリスロマイシンの代替薬として使用できることが明らかになった。

4) 下痢病原体の診断抗血清バンク設立

抗血清は、コレラ菌に対して200種以上、大腸菌に対して200種以上必要である。現在、作業継続中であり、本プロジェクトの次フェーズにもち越される予定である。

5) 腸管病原微生物の薬剤耐性の効果的モニタリング

O1 型コレラ菌、*Aeromonas* sp、腸管凝縮付着性大腸菌に対するフルオロキノロン耐性株の出現がみられ、治療の効果が限られることを示唆している。州保健当局はこの発見を受け警鐘を発しており、治療にあたる医師に問題の存在及び薬剤適正使用を知らしめている。

6) ヒト及び水域の下痢症病原体のモニタリング

STEC の新血清型が発見された。

7) 関連病院ネットワーク改善

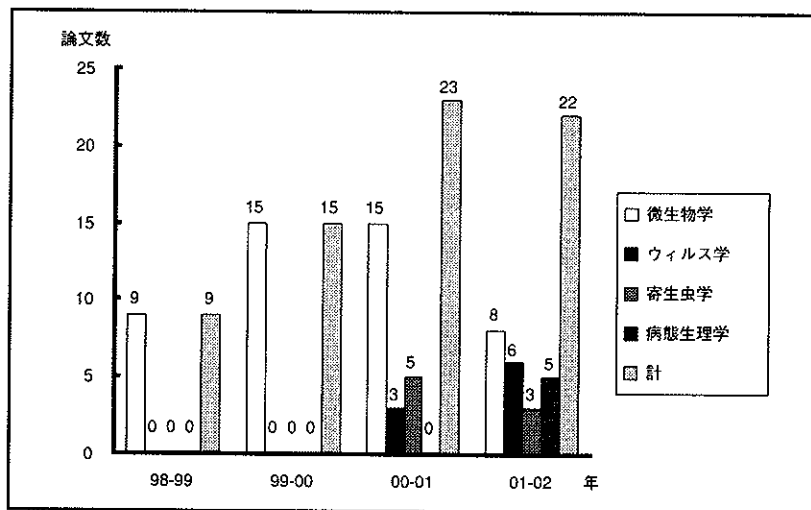
- a) 顕微鏡学及び免疫組織化学の技術教育にあたって、コルカタ市内 SSKM 病院において協力をを行っている。
- b) NICED はこれまで下記医療施設とネットワーク構築を行っている。
 - ・ 感染症病院 (Infectious Disease and Beliaghata General Hospital : ID&BG)

- ・ B. C. Roy 小児病院 (B C Roy Memorial Hospital for Children)
- ・ ホウラ感染症病院 (Infectious Disease Hospital (Satyabala) at Howrah)
- ・ ホウラ総合病院 (Howrah General Hospital)

8) 研究情報の発表

NICED における研究成果は、以下を通じて発表されている。

- a) JICA/NICED プロジェクト年次報告書。
- b) 国内外 (国際的権威誌も含まれる) の専門誌への掲載。図-2 に示すとおり、研究成果の掲載という意味では、NICED 研究者の実力は年々向上している。



出典：JICA/NICED Project Annual Reports

図-2 プロジェクトを通じて発表された論文数

- c) 国内・国際会議における研究発表
- d) 新聞、テレビ、ラジオ等メディアを通じた情報発信

4-1-3 効率性

本プロジェクトの効率性については、投入がどの程度成果につながったかを、投入量及びタイムニングの2点から検証した。

機材の到着は必ずしもスケジュールどおりとはいかず、到着の遅れは特にプロジェクト初年度において目立った。このことが、短期専門家の派遣時期、及び技術移転のスケジュールに影響を及ぼすこともあった。しかし、現在はほとんどの機材は据付が終わり、適切に操作されているので、NICED の研究能力向上につながっている。また、NICED 自前の機材維持管理も適切に行われており、本プロジェクトを更に効率的なものとしている。

本プロジェクトでは、ここまで長期専門家4名(調整員2名含む)及び短期専門家9名(計

19.36人/月)が派遣された。この投入量は他のJICA医療プロジェクトと比較すると少ないが、NICED側は「適切であった」と考えている。また、専門家・NICED研究者双方の熱意及び緊密な協力関係の構築もあり、前項「有効性・目標達成度」に示したとおり本プロジェクトは多大な成果を残した。したがって、投入量からみると本プロジェクトは効率性が高かったと判断できる。

本プロジェクトの特徴の1つは、日本におけるC/P研修にあると考えられる。研修員の派遣手続きに当初の予想を超える時間を要し、派遣が遅れることもあった。しかし、研修員たちはみな4～10か月という長い日本での研修期間のなかで、新しい知識・技術を習得していった。そして、研修を終えると全員がNICEDに戻り、研究所における新技術の確立に大きな役割を果たしている。これまでのところ、いわゆる頭脳流出は全くみられていない。この点から、本プロジェクトはNICEDの効率的な能力蓄積に貢献できたといえる。

ただし、これまで述べたとおり機材供与・研修員派遣に関する手続きの遅れが、本プロジェクトの効率性を失うことになったことは否定できない。

4-1-4 インパクト

上位目標である「下痢症疾患の予防法・治療法の改善」はまだ始まったばかりであり、本プロジェクトを通じたNICEDの研究成果が現地の住民に裨益するには、なお時間を要すると思われる。

しかし、本プロジェクトの実施により、以下に述べる様々なプラスのインパクトがみられた。

(1) 国内現地研修の実施

2000年より、NICEDにおいて「下痢症疾患の分子疫学—コレラを中心に—」と題した国内現地研修を行っており、日本の短期専門家も講師として参加している。研修には国内各州から参加者が集まり、10日間の日程で講義・実習を受ける。研修を終えた研修員には、インド国内における下痢症対策データベース設立のためのネットワークを構築することが期待される。

(2) コレラ集団発生に対する迅速な対応

既に述べたとおり、インドでは1998年以来西ベンガル、オリッサ、グジャラート、ケララの各州において計6度のコレラ集団発生が起こっている。インド政府及び州政府の調査要請を受けて、NICEDは研究者を現地に派遣し、病因及び感染様式を調査し、治療方針の最適化を行った。そのうえで、現地の保健スタッフに対して集団発生を抑えるための助言を行った。

NICEDラボ施設の能力向上は、研究者がコレラの分子疫学をより深く理解するのに貢献

している。

(3) 第三国研修プログラムの体制整備

NICED の能力向上に伴い、2003 年からは第三国研修の拠点としても位置づけられている。このプログラムを通じて、他の途上国専門家が下痢症対策のための新技術・知識を習得することが可能となろう。

(4) 世界に認知される NICED

本プロジェクトにおける研究協力の結果として、NICED の研究者は多くの研究成果を専門誌に掲載することが可能となった。また、NICED はコレラ菌及びビブリオフィーグに関する WHO の協力機関として指定を受けており、インド保健省からも優秀研究施設として表彰されている。さらに、長年 NICED で活躍を続けてきた Dr. G. B. Nair は、アメリカ学士院の外国人理事に選ばれた。

(5) 研究者の昇格・昇進

本プロジェクトを通じた研究活動が成功裏に進み、研究者の能力向上・論文掲載がなされたことで、多くの NICED 研究者がその地位を向上させている。また、日本側の研究者も同様であり、本プロジェクトでの活動の結果、地位を向上させている。これは、本プロジェクトが新興下痢症研究においては日本・インド双方に有益であったことを示している。

(6) 日本人医師のための臨床研修現場としての機能

日本でコレラをはじめとする下痢症・感染症を学んでも、国内で患者を診断したり、治療したりすることは、これまで限られた場所で行われてこなかった。しかし、人の交流が活発になっている現在、日本にはほとんどないといわれてきた感染症が、いつ輸入されても不思議ではない時代になりつつある。そのような事態に備え、日本人の医師が実際の患者に触れ、原体験をしておくことは貴重なことである。NICED では、隣接する西ベンガル州立感染症病院からコレラをはじめとする感染症の患者の検便が持ち込まれ、鑑別診断が行われたり、逆に、治療方法の改善にフィードバックされる体制ができている。この病院との協力で、日本の厚生労働省を通じて、日本人医師を研修医として迎え入れるプログラムが実施された。今後もこのようなニーズは高いと思われ、NICED がその拠点として活用されていくことは意義深いと思われる。

4-1-5 自立発展性

自立発展性は、以下の2点から評価された。

(1) 財政的側面

プロジェクト開始前、NICEDの財政状況は日本側の懸念事項であった。事前調査団報告書(1998年3月)には、NICEDが機材の維持管理及び試薬・消耗品の購入に苦勞をしている様子が報告されていた。

しかし、プロジェクト開始から5年弱、状況は大きく改善した。ICMRからの予算配分が5年間で大幅に増えたことで、NICEDは今や自らの予算で供与機材の維持管理及び試薬・消耗品の購入ができるようになった。また、電子顕微鏡等の高額機材も自前で購入した実績がある。

この状況が継続すれば、財政的な自立発展性は保証される。

(2) 人的・技術的側面

既に述べたとおり、ここまで日本で研修を受けたNICED研究者はすべて研究所に戻り、それぞれの研究活動を継続・発展させている。このことは、日本からの技術移転をより効率的なものにしている。

NICEDの研究者はみな非常にモチベーションが高く、自らの研究活動に誇りをもっている。これはNICEDの研究レベルが今や世界レベルにあり、研究成果が国際的にも評価される可能性が高いことによるものと考えられる。NICEDの研究環境が維持できる限り頭脳流出は起こらず、所内の技術的な自立発展性は確保されるものと思われる。

4-2 結論

本プロジェクトは、NICEDにおける施設整備、人材養成、共同研究推進を通じて、インドにおける下痢症対策技術の確立をめざすものであった。プロジェクトの実施により、PCRをはじめとする様々な技術が確立され、目標は達成されたといえる。

本プロジェクトは、NICEDがある西ベンガル州の保健ニーズ、インドの保健政策、及び日本の協力量針に沿ったものであり、評価時点においても妥当性は高いと判断される。

機材供与及び研修員派遣等に係る手続きに長い時間を要したことで、本プロジェクトの効率性が失われた点是否定できないものの、比較的少ない投入量で多大な成果を得たこと、日本における研修に十分な時間をかけたこと、NICEDにおいて頭脳流出が起こっていないこと等を考慮すると、プロジェクトの効率性は十分に高いものと思われる。

本プロジェクトはNICEDの研究能力向上に焦点が置かれ、その成果が地域住民に及ぶにはなお

時間を要するが、能力向上が現地国内研修の実施や、インド各地で起こったコレラ集団発生への迅速な対応を可能にするなど、プロジェクト実施により多くのインパクトを得ることができた。

自立発展性を財政面・人材面から検討すると、ICMRから現在のレベルのコミットメントがあれば、十分に自立発展性は保証される。

本プロジェクトを共同研究としてみれば、この5年間でも十分成功したといえる。しかし、ODAによる開発協力としてみれば、成功はいまだ道半ばといったところである。したがって今後は、5年間で得られたプロジェクトの成果をいかにして地域住民にもたரசかを計画し、実施することが求められる。

また、研究の成果を発表するだけでは、その専門外の人にとってはプロジェクトの成果を理解するのは非常に困難である。本プロジェクトに関する報告書類を読んでも、JICAが開発協力ではなく高度な研究に対してのみ援助を行ってきたような印象さえ残る。したがって、本プロジェクトが開発協力として、インドの下痢症対策にどのように位置づけられるのか、援助を必要としている人にどのように成果が届くのかを、分かりやすく日本国民に伝えるという広報努力が求められる。

第5章 提言と教訓

5-1 提言

プロジェクトは、コレラ及び関連の下痢症の確定診断技術の向上、薬剤耐性菌の研究という面においては、人材育成及びNICEDの機能の拡充の両面から、格段の効果を発現したといえる。しかし、研究者ではなく、一般国民が、開発協力の観点から本プロジェクトをみた場合、その成果が、下痢症による死亡率を減少させることに、どのようにつながっていくのかが見えにくい。本プロジェクトで目標としていた「下痢症の対策技術が開発され、確立される」ためには、診断技術、薬剤耐性の研究にとどまらず、下痢症の治療法が開発、改良され、それが臨床の場で生かされなければ、その真の目標を達成したとはいえない。そのためには、研究者が、常に公衆衛生の視点を持ちながら研究を行うこと、特に臨床部門の研究者が、臨床の場へと出ていくことが必要であろう。また、一般国民には分かりにくい本プロジェクトの成果を、分かりやすく広報していく努力も必要である。

5-2 教訓

一般的に、技術協力が受け入れられにくいといわれているインドにおいて、ここまで技術移転が成功し、人材育成を図ることが成功できたのは、本プロジェクトにかかわる日本・インド双方の下痢症対策にかける共通の熱意と、双方が築きあげてきた人間関係に起因するところが大きい。いかなる分野においても、C/Pとの関係構築は、プロジェクトの基本であり、本プロジェクトはこのことを改めて示したといえよう。

付 属 資 料

1. 調査日程
2. 主要面談者
3. ミニッツ
4. プロジェクトの投入実績
5. 終了時評価ワークショップ発表資料
6. 終了時評価ワークショップ発表資料(日本語訳)

1. 調査日程

日順	月日	曜日	フライト	日 程
1	8/31	土	成田発	
2	9/1	日	竹 IC732 (16:10) コルカタ着	竹団員到着
3	9/2	月		国立コレラ・腸管感染症研究所 (NICED) 表敬、 打合せ
4	9/3	火		プロジェクト・デザイン・マトリックス (PDM) 指標入手、分析
5	9/4	水		PDM 指標入手、分析 NICED 他関係者インタビュー
6	9/5	木		PDM 指標入手、分析 NICED 他関係者インタビュー
7	9/6	金		評価レポート案作成、感染症病院 (ID&BG) 視察
8	9/7	土		評価レポート案作成
9	9/8	日	Tripathy S2232 (21:45) コルカタ着	Dr. Tripathy (インド側評価者) 到着
10	9/9	月	竹田、林、定本 TG313 (12:40) コルカタ着	NICED 所長との打合せ (14:30-) 西ベンガル州保健省表敬 (16:00-) 調査団内打合せ (17:00-) 在コルカタ日本国総領事館主催夕食会 (19:30-)
11	9/10	火	竹田、林、定本、竹、 9W912 (22:15) デリー着	NICED にて評価ワークショップ コルカタ→デリーへ移動
12	9/11	水		JICA デリー事務所 (10:00-) 保健省 (11:30-) DEA (15:30-)
13	9/12	木		合同調整委員会／インド医学研究評議会 (ICMR) (10:00-) ICMR 主催昼食会 (12:30-) 団長主催夕食会 (20:00-)
14	9/13	金	竹田、林、定本 AI306 (17:40) デリー発	JICA デリー事務所報告 (11:00-) 在インド日本国大使館報告 (15:00-) 移動
25	9/14	土		資料取りまとめ
16	9/15	日	竹 TG316 (00:05) デリー発	日本着

2. 主要面談者

(1) コレラ・腸管感染症研究所 (NICED)

Dr. S. K. Bhattacharya	Director
Dr. S. Chakrabarti	Deputy Director
他ワークショップ参加者	

(2) 西ベンガル保健省

Mr. Asim Burman	Secretary, Dept. of Health & Family Welfare, Govt. of W.B
Dr. C. R. Maity	Director, Medical Education, Govt. of West Bengal

(3) インド医学研究評議会 (ICMR)

Prof. N. K. Ganguly	Director General
Prof. V. I. Mathan	Consultant
Dr. Lalit Kant	Senior Deputy Director General
Dr. Deepali Mukherjee	Deputy Director General

(4) 大蔵省経済局 (Ministry of Finance)

Ms. Margret Srivastava	Under Secretary, Department of Economic Affairs
------------------------	---

(5) 保健家族福祉省 (Ministry of Health & Family Welfare)

Mr. A. K. Jha	Director, International Health
---------------	--------------------------------

(6) 在インド日本国大使館

平林 博	大 使
児玉 和夫	公 使
小林 浩史	参事官
金井 尚	一等書記官

(7) 在コルカタ日本国総領事館

菊池 龍三	総領事
川口 三男	首席領事
堀内 輝章	領 事

(8) JICA デリー事務所

武 徹

次 長

松元 隆

所 員

(9) プロジェクト専門家

小島 博美

長期専門家

三好 伸一

短期専門家

竹野 伸二

業務調整員

MINUTES OF MEETING
BETWEEN
THE JOINT EVALUATION TEAM AND
THE AUTHORITIES CONCERNED OF THE GOVERNMENT OF INDIA
ON THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION FOR THE PROJECT
FOR "PREVENTION OF EMERGING DIARRHOEAL DISEASES"

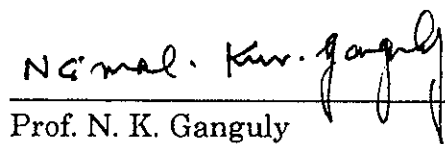
The Japanese Final Evaluation Team organized by the Japan International Cooperation Agency and headed by Prof. Yoshifumi TAKEDA (hereinafter referred to as "the Team") visited India from 2 September 2002 to 13 September 2002 for the purpose of jointly evaluating the outcome of the Project for Prevention of Emerging Diarrhoeal Diseases in India (hereinafter referred to as "the Project") with Dr.S.P.Tripathy, former-DG of ICMR, evaluator of the Indian side.

During their visit, the Joint Evaluation Team was briefed on the achievements of the project by the project staff and the relevant authorities of the Government of India and through the Evaluation Workshop. Based on the information and data collected through the evaluation, the Joint Evaluation Team compiled the results of their findings in the evaluation report and presented it to the Joint Coordinating Committee on 12 September 2002 at New Delhi.


The Joint Coordinating Committee discussed the contents of the report and shared mutual understanding as in the Summary of discussions. (Attachment 1)



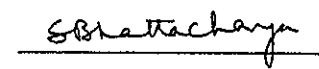
Prof. Yoshifumi Takeda
Leader
Japanese Project Final Evaluation Team
Japan International Cooperation Agency



Prof. N. K. Ganguly
Director-General
Indian Council of Medical Research



Mr. A.K. Jha
Director
International Health
Ministry of Health and Family-welfare



Dr. S.K. Bhattacharya
Director
National Institute of Cholera
and Enteric Diseases

New Delhi 13 September 2002

SUMMARY OF DISCUSSIONS
OF THE JOINT COODINATION COMMITEE

The Joint Coordination Committee (JCC) reviewed the Final Evaluation Report (Attachment 3), prepared by the Joint Evaluation Team, based on the workshop held on 10 September 2002 at the NICED and discussions with relevant authorities in Kolkata and New Delhi.

The team gave a presentation on the findings of the joint final evaluation on the Project, and highly commended the achievement made by the NICED in cooperation with Japanese experts during the five-year technical co-operation period. As a result of the joint final evaluation, the Team recommended to the JCC that:

- (1) In order to facilitate project implementation further administrative mechanism should be appropriately streamlined.
- (2) From the view of Project management, the Project objectives and the implementation schedule should be clearly outlined at the initial stage. That would make monitoring much easier.
- (3) The long-continued absence of the Chief Advisor adversely affects the Project and imposes severe burden on the Project Coordinator. This may be avoided in future.
- (4) JICA should also consider dissemination of information regarding the success of the Project, which it has not been able to do effectively so far. Few Japanese know the fruits of the Project. The achievements and the relevance of the activities should be highlighted.
- (5) Good expert-counterpart relationship has been the key to the success of the projects. Such relationship should be continued.
- (6) The Project should be extended for at least two years beyond the 5-year planned tenure for making preparation for the Cholera vaccine trial.

Cy *Shukla* SFB 13-9-2002
Shukla

List of participants of Joint Coordination Committee

- | | |
|---------------------------|---|
| (1) Prof. N. K. Ganguly | Director-General, ICMR |
| (2) Dr. S.P. Tripathy | Former-DG-ICMR (Joint evaluation team member) |
| (3) Dr. Lalit Kant | Sr. Dy-DG-ICMR |
| (4) Dr. Deepali Mukherjee | Dy-DG, ICMR |
| (5) Prof. V.I. Mathan | Advisor to DG-ICMR |
| (6) Dr. S.K. Bhattacharya | Director, NICED, Kolkata |
| (7) Dr. Y. Takeda | Team Leader of the Joint Evaluation Team |
| (8) Dr. H. Hayashi | Joint Evaluation Team member |
| (9) Ms. Y. Sadamoto | Joint Evaluation Team member |
| (10) Mr. N. Take | Joint Evaluation Team member |
| (11) Dr. H. Kojima | Long term JICA expert |
| (12) Dr. S. Miyoshi | Short term JICA expert |
| (13) Mr. S. Takeno | Coordinator, JICA project |
| (14) Ms. M. Mukherjee | Project officer, JICA project |
| (15) Mr. T. Take | Deputy Representative, JICA India Office |
| (16) Mr. T. Matsumoto | Asst. Representative, JICA India office |

Cej

SKB
13-9-2022

SKB

**FINAL EVALUATION REPORT
OF THE PROJECT FOR PREVENTION OF EMERGING DIARRHOEAL DISEASES
UNDER THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION IN INDIA**

1. INTRODUCTION

Project Title	Prevention of Emerging Diarrhoeal Diseases
Period of Cooperation	From February 1998 to January 2003
Executing Agency in India	National Institute of Cholera and Enteric Diseases (NICED), Kolkata under Indian Council of Medical Research (ICMR)
Summary of the Project	See attached PDM ₀ (<i>Annex 1</i>)

2. METHODOLOGY OF FINAL EVALUATION

2-1 Evaluation Period

From 2 to 13 September 2002

2-2 Evaluation Team

The Final Evaluation Team (the Team) consisted of the following members:

NAME	TITLE
Prof. Yoshifumi TAKEDA	Team Leader
Prof. Hideo HAYASHI	Member (Medical Sciences)
Ms. Yutori SADAMOTO	Member (Cooperation Planning)
Mr. Naoki TAKE	Member (Project Evaluation)
Dr. S. P. TRIPATHY	Indian Consultant

2-3 Methodology of Final Evaluation

The final evaluation of the Project was carried out in line with the procedure of the Project Cycle Management (PCM) method outlined below:

2-3-1 Project Design Matrix for Evaluation (PDM_E)

Reviewing the PDM formulated at the initiation of the Project in January 1998 with reference to the Annual and Quarterly Project Reports, the Team produced the PDM-for-evaluation (PDM_E), which shows how the Project is to be evaluated. (*Annex 2*)

2-3-2 Evaluation Criteria

There are the following five evaluation criteria under the PCM method.

(1) Relevance

Relevance is an overall assessment of whether the Project Purpose and Overall Goals are in keeping

with the policy of the donors and the recipient, is responsive to local needs and priorities, and the Project has contributed to achievement of the vision and the mission of NICED.

(2) Effectiveness

Effectiveness means how much the Project Purpose can be achieved through the Outputs. The Team compared the current situation with that existed before the Project was initiated.

(3) Efficiency

Efficiency is the measure of total resource in relation to the degree of success of the Outputs. The Team compared the current situation with that before the Project was initiated, and investigated whether the Outputs of the Project were commensurate with the Inputs.

(4) Impact

Impact is a measurement of both positive and negative effects produced directly or indirectly as a result of implementation of the Project.

(5) Sustainability

Sustainability is the ability of the recipients to maintain the positive gains on their own beyond the tenure of the Project.

2-3-3 Evaluation Study

The Team collected and analyzed the information from the Project Reports, related documents and statistical data according to the PDM_E. The Team also conducted interviews with the staff of NICED, the stakeholders of the Project. Further, the Team discussed with the West Bengal State health authorities at Kolkata. This was followed by the Evaluation Workshop held in Kolkata on 10 September 2002. Following this, the Team met the Union Ministry of Health officials and representatives of the Department of Economic Affairs, the Ministry of Finance.

2-3-4 Evaluation Workshop

The Team carried out the Evaluation Workshop. The following attended:

- (1) Mr. A. BURMAN, Secretary, Ministry of Health and Family Welfare, Government of West Bengal
- (2) Dr. S. P. TRIPATHY, ex-DG-ICMR
- (3) Dr. Lalit KANT, Sr. Dy-DG-ICMR
- (4) Dr. S. K. BHATTACHARYA, Director, NICED Kolkata
- (5) Mr. M. KAWAGUCHI, Senior Consul, Consulate-General of Kolkata
- (6) Dr. Y. TAKEDA, Team Leader, Mission Team
- (7) Dr. H. HAYASHI, Mission member, Japan
- (8) Ms. Y. SADAMOTO, JICA HQ, Japan

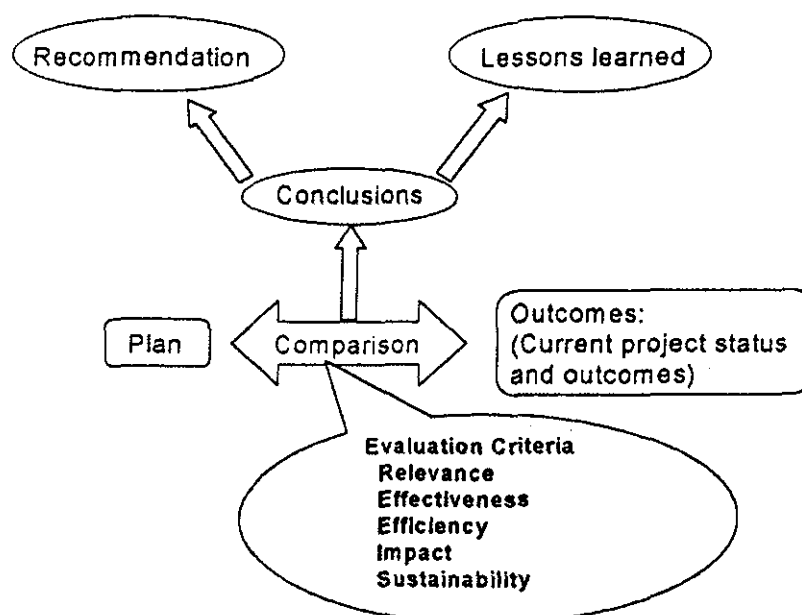
- (9) Mr. T. MATSUMOTO, Asst. Representative, JICA-India Office, New Delhi
- (10) Mr. N. TAKE, JICA Consultant, Japan
- (11) Dr. S. MIYOSHI, Short-term JICA Expert
- (12) Dr. H. KOJIMA, Long-term JICA Expert
- (13) Mr. S. TAKENO, Coordinator, JICA Project Office, NICED, Kolkata
- (14) Ms. M. MUKHERJEE, Project Officer, JICA Project Office, NICED, Kolkata

The Workshop aimed at:

- (1) Review of the Project Outputs
- (2) Evaluation according to 5 criteria mentioned in 2-3-2.
- (3) Identification of the problems and discussion on their solutions
- (4) Suggestions for future guidance and taking stock of lessons learned

According to the PCM-based model, evaluation was done by comparison of the Project outcomes with the situations as they existed before the launch of the Project. In addition, the Team also compared the Project outcomes with anticipated outcomes planned and matching them against the contribution of the inputs from the Japanese side. (Figure 1)

Figure 1



(Source) FASID (2000). Monitoring and Evaluation Based on the PCM Method, 2nd Edition, p19

The following NICED scientists made presentations on their respective research activities under the JICA-NICED Project.

- 1) Dr. T. RAMAMURTHY, Assistant Director, Division of Microbiology
- 2) Dr. T. N. NAIK, Deputy Director, Division of Virology
- 3) Dr. D. SUR, Senior Research Officer, Division of Epidemiology
- 4) Dr. P. DAS, Deputy Director, Division of Parasitology
- 5) Dr. D. DUTTA, Deputy Director, Division of Clinical Medicine
- 6) Dr. M. K. CHAKRABORTY, Deputy Director, Division of Pathophysiology
- 7) Dr. T. BISWAS, Assistant Director, Division of Immunology
- 8) Dr. D. R. SAHA, Senior Research Officer, Division of Electron Microscopy

In addition, the following scientists who underwent counterpart training in Japan narrated their experiences on the training undertaken in Japan and the benefits to themselves and to the NICED.

- 1) Dr. G. B. NAIR (Molecular Microbiology: esp. *V. cholerae*)
- 2) Dr. S. K. NIYOGI (Molecular Microbiology: esp. *E. coli*)
- 3) Dr. T. N. NAIK (Virology: Human Caliciviruses and rotaviruses)
- 4) Mr. R. B. BOSE (Clinical Microbiology: raising antisera against *V. cholerae*)
- 5) Dr. M. K. SAHA (Virology: Hepatitis virus)
- 6) Dr. Dr. T. BISWAS (Immunology: Mucosal immunity)
- 7) Dr. T. KRISHNAN (Virology: Caliciviruses and rotaviruses)
- 8) Mr. S. K. BHOWMIK (Masters programme in Medical Microbiology)
- 9) Dr. D. R. SAHA (Pathology: Immunochemistry)
- 10) Dr. B. L. SARKAR (Bacteriology: Bacteriophages)
- 11) Mr. S. TALUKDAR (Microbiology: Toxinology)

3. PRESENTATIONS BY NICED SCIENTISTS

The following is a brief account of the presentations of the scientists on their research activities related to the Project.

3-1 Microbiology (Dr. T. RAMAMURTHY)

3-1-1 Six cholera outbreaks in India were investigated between 1998 and 2000. Aetiologic agent was identified and its mode of transmission was elucidated. Prevention and control measures were suggested.

3-1-2 Molecular aspects covered detailed characterization of *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* and diarrhoeagenic *E. coli*. RAPD-PCR, ribotyping and PFGE methods were established to perform DNA finger printing. Emergence of pandemic clones of *V. parahaemolyticus*, new serogroups of STEC and fluoroquinolone resistant strains were detected.

3-1-3 NICED is now supplying diagnostic antisera for *V. cholerae* O1 and O139 serogroups to different laboratories and hospitals in this country. Antisera production of *V. cholerae* non-O1, non-O139 is under progress.

3-1-4 Domestic training programme on "Molecular Epidemiology of Diarrhoeal Diseases with special reference to cholera was conducted 3 times between 2000 and 2002 at NICED. Thirty-five participants from different parts of India were trained.

3-2 Virology (Dr. T. N. NAIK)

3-2-1 Dr. T. N. Naik, Deputy Director (Senior Grade) and Head, Division of Virology was trained in Sapporo University School of Medicine, Sapporo, Japan in July 1998 as JICA Fellow on molecular virology of human rotaviruses and Caliciviruses for 8 months. On his return in April 1999, he initiated molecular characterization of human group B rotaviruses, human group A rotaviruses and human Caliciviruses at NICED. Human Group B rotaviruses were detected in the Division of Virology in 1997-98.

3-2-2 The primers were designed from the consensus sequences for amplification of various genes of human group B rotaviruses for the first time in the world and other investigators all over the world are now using the same. Further molecular characterization of the strain revealed that the truncation of NSP2 and NSP3 of ADRV strain reported from China resulted in a large-scale outbreak affecting > 1 million people in 1982. The intact NSP2 and NSP3 of CAL (Calcutta) is a wild strain. A detailed molecular characterization revealed a number of new characteristics not known earlier.

3-2-3 Molecular characterization of human group A rotaviruses revealed prevalence of a number of rare strains from India, detection of 3 G12 strains and one P19 strains in Calcutta and also evidence of association of reassortants of human and porcine strains in outbreaks of infantile diarrhoea in Manipur, India.

3-2-4 Human Caliciviruses have been detected in Eastern India for the first time by RT-PCR.

3-2-5 Dr. T. Krishnan, Senior Research Officer, was trained in the Department of Pediatrics, Sapporo Medical University School of Medicine, for 10 months in 2000-2001. She learned molecular virology of human Caliciviruses and human Astroviruses. On her return she is studying human Astroviruses from diarrhoea cases for molecular analysis.

3-3 Epidemiology (Dr. D. SUR)

3-3-1 Zinc Supplementation on Incidence of Diarrhoea and Growth Pattern among Low Birth Weight (LBW) Infants

In a randomized, double blind, placebo controlled, community-based trial, conducted in eastern Kolkata, a birth cohort of 100 LBW infants were randomly allocated into either of two groups i.e., intervention group (5mg elemental zinc daily) or placebo group. The study indicated that zinc supplementation had a significant protective effect on the incidence of diarrhoea among the LBW babies. A significant gain in weight and length of zinc-supplemented children was also observed at the end of one year.

3-3-2 Zinc Supplementation in Reducing Diarrhoeal Morbidity among Rural Children

A randomized, double blind, community-based, intervention study, in which 280 rural children between 6 – 41 months, were administered zinc in doses of either 10mg daily or 50mg weekly or a placebo for 16 weeks. The study showed that zinc supplementation is effective in reducing diarrhoeal morbidity when administered in either daily or even weekly doses.

3-4 Parasitology (Dr. P. DAS)

3-4-1 Molecular Diagnosis of Enteric Parasites

The PCR-based diagnostic system using primers designed from sequences of collagenase gene of *E. histolytica* showed its ability to differentiate *E. histolytica* from *E. dispar*.

The nested PCR targeting Intergenic Spacer Region of the rRNA gene of *G. lamblia* was found to be highly sensitive and specific in detecting *G. lamblia* from other enteric pathogens.

The nested PCR targeting SS RNA showed better diagnostic approach than routine microscopy for detection of Cryptosporidium. In RFLP, VspI enzyme was found to be useful in differentiating human from bovine Cryptosporidium genotype.

3-5 Clinical Medicine (Dr. D. DUTTA)

3-5-1 Sucrose-based Hypo-osmolar Oral Rehydration Solution in Adults and Older Children with Cholera

To evaluate whether a sucrose-based hypo-osmolar ORS is more absorption efficient in children and adults with cholera as compared to WHO ORS. Male patients aged 10-55 years, suffering from acute watery diarrhoea of less than 24-hour duration with signs of severe dehydration were included in the study. Patients were initially rehydrated with Intravenous Ringer's Lactate solution, and then randomly assigned to receive one of the two ORSs according to a random number table. Intake of ORS, total stool output and duration of diarrhoea were recorded.

In all 65 male patients were evaluated of which 50 patients were positive for *V. cholerae*. Out of 50 *V.*

cholerae positive cases, 26 cases received sucrose-based ORS and 24 cases received WHO ORS. Duration of diarrhoea, stool output and ORS requirement were significantly less ($p < 0.05$) among patients who received sucrose-based ORS than the patients who received WHO ORS. No case of hyponatraemia was observed in the present study.

3-5-2 Supplementation of Zinc, Zinc and Vitamin A and Combination of Micronutrients with vitamins on Acute Watery Diarrhoea in Malnourished Children

The impact of supplementation of zinc, vitamin A and combination of micronutrients in malnourished children with acute watery diarrhoea was evaluated with respect to duration of diarrhoea, stool output, frequency of diarrhoea consumption of rehydration fluid and nutritional recovery.

Male children aged between 6 - 23 months suffering from acute watery diarrhoea of less than 3 days (with some dehydration) and nutritional status of $< 75\%$ of Harvard standard of weight for age were included in the study. Patients were randomized according to a random number table to allocate the specific numbered bottle of syrup supplementation or only syrup (placebo).

The children received 20mg of elemental zinc (2RDA) and a single oral dose of placebo vitamin A, 20mg of elemental zinc (2RDA) and a single dose of vitamin A, Micronutrient combination (2RDA of all micronutrients: zinc 20mg, iron 10mg, copper 2mg, selenium 40 micrograms, vitamin B12 1.4 micrograms and folate 100 micrograms) and single oral dose of vitamin A, or Only placebo syrup and single dose of placebo vitamin A.

The syrup was given daily in two divided doses for a period of 14 days even after cessation of diarrhoea and discharge from the hospital.

41 children received zinc syrup and placebo vitamin A. 44 children received zinc syrup and vitamin A. 39 children received syrup of micronutrients and vitamin A. 43 children received placebo of micronutrients and placebo of vitamin A.

All four groups were comparable with regard to various initial characteristics. On comparison of the outcome variables of the four groups, it was observed that the outcome variables of zinc and placebo vitamin A group, zinc and vitamin A group and micronutrient combination with vitamin A group were significantly lesser than the placebo group. There was no statistically significant difference among the three supplemented groups. Only zinc supplementation may be recommended as an adjunct to ORS for its beneficial effects in acute watery diarrhoea in malnourished children.

3-6 Pathophysiology (Dr. M. K. CHAKRABORTY)

In this division, several studies are being carried out such as mechanism of action of heat stable toxin secreted by *E. coli* and non-O1 *V. cholerae*, enterotoxicity of *V. cholerae* non-O1 non-O139, and development of vaccine against shigellosis. It is demonstrated for the first time that a human colonic cell line COLO-205 may be used as a model cell line system to study the mechanism of actions of Sta. In COLO-205, Sta binds to its receptor and stimulates not only guanylate cyclase but also causes IP3 mediated intracellular calcium

mobilization, enhanced calcium causes translocation of the enzyme protein kinase C from cytoplasm to membrane and phosphorylates different membrane proteins. Another in-depth study revealed that the mechanism of action NAG ST differs from that of *E. coli* ST initial rise of IP3 mediated calcium causes further influx of calcium from extracellular environment. Partially purified toxin of *V. cholerae* non-O1 non-O139 showed significant increase in short circuit current and potential difference compared to non toxigenic DH5a in Ussing chamber.

3-7 Immunology (Dr. T. BISWAS)

3-7-1 Immunoregulatory Properties of Porin of Shigella

Porin is the major outer membrane protein with pore-forming ability of *Shigella dysenteriae* type 1. 130,000 native protein was purified and found to be strongly immunogenic, antigenically related within species and surface-exposed. It proliferated murine splenocytes and released IL-1 and NO from macrophages. Flow cytometric analysis undertaken in order to study it as a potential vaccine showed that porin strongly expressed CD80 on murine macrophages.

3-8 Electron Microscopy (Dr. D. R. SAHA)

Dr. D.R.Saha was trained in Okayama Prefectural University, Japan from 24 May to 22 November 2001 under JICA-NICED collaborative programme. She had the opportunity to work with Prof. M. Mori in the Pathology Department and learnt a few techniques of Immunohistochemistry.

Before her visit to Japan, she was working with a project where she was trying to correlate histology with genotypes of *Helicobacter pylori* isolated from cases of peptic ulcer, nonulcer dyspepsia, gastric carcinoma and lymphoma. At present she is using Gimenez stain, a rapid cost-effective stain for identification of *Helicobacter pylori*. Immunostains are being used in situations where the organisms are scanty and modified Giemsa stain and Gimenez stain fail to detect the bacteria. The patients suffering from gastritis, peptic ulcer and gastric malignancies attending in the Gastroenterology Department of the Institute of Postgraduate Medical Education and Research, Kolkata, are being evaluated for their association with *H. pylori* using the above techniques.

4. SUMMARY OF FINAL EVALUATION

4-1 Relevance

From the angles of the needs in the State, the Government's health policy and Japanese cooperation policy, the Project continues to have relevance even at the time of its final evaluation.

This was particularly evident by the emphasis given by the Secretary of Health of the West Bengal Government. While appreciating the significant achievement of the Project in improving the health situation in the State, he reiterated the high morbidity and mortality due to diarrhoeal diseases in West Bengal, and

expressed his hopes that the Project will continue in future years and expand the activities to newer areas (besides Kolkata) for the prevention and control of emerging diarrhoeal diseases.

(1) Consistency with Local Needs

According to health statistics available from the Government of West Bengal, more than one million acute diarrhoeal cases were reported with more than one thousand deaths in 2000. Thus diarrhoeal diseases are still one of the leading causes of morbidity and mortality (Table 1). Diarrhoeal diseases head the list of the top 10 causes of morbidity and mortality due to communicable diseases in West Bengal in 2000.

The Project intends to address the issue of reducing morbidity through upgrading the research capacity of NICED.

Table 1: Reported cases and deaths due to communicable diseases, West Bengal in 2000

	Patients treated	Deaths (IPD only)
1 Acute Diarrhoeal Diseases	1,019,327	1,103
2 Acute Respiratory Infection	510,463	300
3 Pulmonary Tuberculosis	72,457	1,088
4 Pneumonia	70,518	790
5 Enteric Fever	29,156	71
6 S.T.D.	13,065	0
7 Measles	12,143	33
8 Viral Hepatitis	5,831	157
9 Meningococcal Meningitis	2,958	643
10 Whooping Cough	2,808	5
Total	1,738,726	4,190

(Source) *Health on the March, West Bengal 2000-01*, State Bureau of Health Intelligence, Directorate of Health Services, Government of West Bengal

(2) Consistency with Indian Health Policy

The Ministry of Health and Family Welfare of India unveiled the new National Health Policy in 2002 (NHP-2002). Although the National Health Programmes recorded some notable successes such as eradication or near eradication of several diseases (e.g. Guinea worm infection, poliomyelitis, smallpox) and substantial decline in infant mortality rate, India continues to have high morbidity and mortality due to malaria, TB, and water-borne infections such as cholera, typhoid fever and diarrhoeal diseases (bacterial, viral and parasitic), and viral hepatitis (A and E).

NHP-2002 envisages to continue the health programmes for reduction of mortality by 50% on account of TB, malaria and other vector and water-borne diseases by the year 2010. The Project intends to contribute to the containment of some of these diseases.

NHP-2002 also aims at strengthening health research activities for new therapeutic methods and vaccines for tropical diseases, and reinforcing the national disease surveillance system to detect and counter focal outbreaks of diseases. The Project is to support these activities, particularly on diarrhoeal diseases.

ICMR places a high priority to research on communicable diseases, and its National Health Research Policy also encourages the research activities in microbiology and molecular biology, included in the areas of activities of NICED. Therefore aims and objectives of the Project are consistent with ICMR and National

Health Policy.

(3) Consistency with Japanese Cooperation Policy

At the Kyushu-Okinawa G8 Summit in 2000, the issue of Infectious and Parasitic Diseases was taken up as one of the major development issues. On this occasion, Japan, as the president of the Summit and a leading donor as well, announced “The Okinawa Infectious Diseases Initiative” for enhancing its assistance in this area with the target of allocating a total of US\$3 billion over the next 5 years beginning in 2000.

4-2 Effectiveness

Effectiveness of the Project was evaluated by the extent of accomplishment of the Project Purpose and the Outputs.

4-2-1 Achievement of the Project Purpose

The Project Purpose was to develop and establish technology for prevention and control of emerging diarrhoeal diseases by NICED. Although more time is needed to accomplish this completely, following techniques have been successfully established and are being carried out routinely in different divisions of NICED through the Project activities:

- (1) **Polymerase Chain Reaction (PCR)**
- (2) **RT-PCR**
- (3) **Ribotyping**
- (4) **Genotyping**
- (5) **Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)**
- (6) **Fingerprinting**
- (7) **Cloning and Sequencing of genes**
- (8) **Immunohistochemical Techniques**
- (9) **Fluorescence Activated Cell Sorter (FACS)**
- (10) **PCR-ELISA**
- (11) **Tissue Perfusion Studies**
- (12) **Technology for toxin purification system**

These techniques have enabled NICED to undertake following studies at advanced level on:

(1) Molecular Epidemiology of Cholera

Randomly polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR), ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) have been used for this study.

(2) Detection of Pandemic Strains of *Vibrio parahaemolyticus*

Group-specific PCR for detection of *tdh* virulence genes and genes of ORF-8 was successfully

employed for the detection of pandemic clones of *V. parahaemolyticus*.

(3) Diarrhoeagenic *E. coli* (DEC)

PCR-based detection assay system of DEC was employed for the first time in the surveillance system, and enabled NICODE to detect enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) and enteroaggregative *E. coli* (EAaggEC).

(4) Molecular Characterization of Shiga-toxin Producing *E. coli* (STEC)

Chromosomal virulence genes such as, *eae*, *stx* variants and other genes such as *KatP*, *hlyA*, *etpD* and *etpP* located in the plasmid of STEC strains were detected by PCR.

(5) Drug Resistance of Enteric Pathogens

Using conventional susceptibility testing, resistance of enteric pathogens to commonly used antibiotics was monitored among strains isolated from hospitalized cases of diarrhoea. Drug resistance pattern has been useful in rationalizing the choice of antibiotics in the management of cholera and Shigellosis cases.

(6) RT-PCR for the Detection of Rotavirus

Using RT-PCR, Group B rotavirus was detected in adult diarrhoea cases in Kolkata during 1998, two decades after its first appearance in several outbreaks in China involving over ten thousands of adults.

(7) Molecular Typing of Enteric Pathogens Associated with Outbreaks of Diarrhoea

Strains isolated from cases of diarrhoeal outbreaks were subjected to different molecular typing methods such as RAPD-PCR, ribotyping and PFGE.

(8) Differential Diagnosis of *Giardia lamblia* by PCR

PCR-based detection system is currently routinely being used for the detection of *G. lamblia* from stool specimens.

(9) Studies on Collagenase of *Entamoeba histolytica*

Collagenase was detected by scanning electron microscopy. Antibody production against purified electron dense granules was made. Amplification of genes encoding for collagenase and characterization of the mRNA species of differentially expressed genes of *E. histolytica* were undertaken.

(10) Studies on Heat-stable Enterotoxin

The role of heat-stable enterotoxin produced by non-O1 *V. cholerae* was studied fluorometrically, using quenching of fura-2 fluorescence.

(11) Detection of Human Caliciviruses, Astroviruses and Adenoviruses

Using RT-PCR, NICODE scientists could detect for the first time Human Caliciviruses, Human

Astroviruses and Adenoviruses in Eastern India.

(12) Evolving better treatment methods

Efficacy of sucrose-based ORS and hypo-osmolar ORS particularly in malnourished children were studied. Zinc supplementation has been beneficial in low birth weight infants and older children with or without diarrhoea. Newer antibiotics like azithromycin were evaluated for the treatment of cholera.

4-2-2 Relevance of the Outputs to the Project Purpose

(1) Investigation on cholera outbreak

Six outbreaks of cholera have been investigated in Orissa (following the super cyclone), Gujarat, Kerala and West Bengal (following the flood in Malda).

(2) Molecular identification and characterization of enteric pathogens are developed.

- a) Third allele of CTX phi carrying genes of cholera toxin was identified.
- b) Emergence of new clone of *V. cholerae* O1 following O139 outbreaks was established.
- c) Emergence of pandemic strains of *V. parahaemolyticus* belonging to serovars O3:K6, O4:K68, O1:K125 and O1:KUT was detected.
- d) PCR-based identification and typing of enteric pathogens of *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *E. coli* was undertaken.
- e) Human group B rotaviruses were detected in adults.
- f) Primers were designed for amplification of various genes of human group B rotaviruses for the first time in the world

(3) Newer therapeutic approaches are developed for emerging diarrhoeal diseases.

- a) Clinical study showed supplementation of zinc, zinc and vitamin A, and combination of micronutrients and vitamins as adjunct of ORS had beneficial effects on dehydrating acute watery diarrhoea in malnourished children.
- b) Study indicated Azithromycin may be used as an alternative to erythromycin in the treatment of cholera in children

(4) Diagnostic antiserum bank for diarrhoeal pathogens is established.

A humble beginning has been made through training of a technician in Japan in raising diagnostic antisera in rabbits for identification of *V. cholerae* strains. Antisera need to be raised against over 200 *V. cholerae* and over 200 *E. coli* serotypes. This work is continuing and will be extended to the next phase of the Project.

(5) Drug resistance of enteropathogenic organisms can be monitored effectively.

Study showed the emergence of fluoroquinolone resistant strains of *V. cholerae* O1, *Aeromonas* sp

and enteroaggregative *E. coli*, suggesting their limited therapeutic value. The State health authorities have been alerted of the findings, so that their physicians treating such cases are aware of the problems and use appropriate alternative drugs.

- (6) **Monitoring of diarrhoeal pathogens is conducted in humans and in its reservoirs.**
New serotypes of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) were identified.
- (7) **Networking of relevant hospitals is improved.**
- a) Collaboration with SSKM Hospital in establishing endoscopy and Immunohistochemical techniques
 - b) Networking is established with the following institutions:
Infectious Disease and Beliaghata General Hospital
B C Roy Memorial Hospital for Children
Infectious Disease Hospital (Satyabala) at Howrah
Howrah General Hospital
- (8) **Dissemination of Scientific Information**
Information has been disseminated through:
- a) JICA/NICED Project Annual Reports
 - b) Publications: in international and national journals, majority with high impact factor

Table 2 Numbers of papers published through the Project

Year	98-99	99-00	00-01	01-02	TOTAL
Div. Microbiology	9	15	15	8	47
Virology	-	-	3	6	9
Parasitology	-	-	5	3	8
Pathophysiology	-	-	-	5	5
TOTAL	9	15	23	22	69

(Source) JICA/NICED Project Annual Reports

Skill and capability of the staff and productivity in terms of Output have been steadily increasing in successive years as evident from Table 2.

- c) Presentation of scientific papers in national and international scientific conferences
- d) Reporting through media: press, TV and radio

4-3 Efficiency

Efficiency of the Project was measured as to whether Outputs were commensurate with Inputs.

The arrival of equipment was not always as per schedule, sometimes delayed especially in the first year of the Project. Such delay affected the dispatch of the short-term experts and the schedule of technology transfer. But now most of the equipment has been installed and operating properly, thereby upgrading research

capability of NICED. Proper maintenance of the equipment by NICED has also made the Project run more efficiently.

Four long-term experts (including two project coordinators) and totally 19.36 M/M (man-months) short-term experts were dispatched for the Project. The amounts of Inputs, especially experts, were comparatively smaller than any other JICA Projects for the health sector. But the amounts were appropriate and thanks to their enthusiasm and close collaborative research activities with scientists of NICED, counterparts of the Project, the inputs were converted into outputs efficiently, as indicated under the section 4-2-2.

A key component of the Project was the counterpart training in Japan. In spite of occasional delay of dispatch of trainees due to time-consuming procedures, they were able to spend adequate time for their training under Japanese scientists and could acquire new skills and knowledge. All the scientists sent for training returned to NICED and helped in the establishment of newer techniques in NICED. There has thus been efficient capacity building and transfer of technology without any brain drain from NICED.

The selection of scientists for training had been made with due care to meet the training needs for technology not readily available. The training programme effectively contributed to enhanced capabilities of individual scientists as well as the team for undertaking concurrent evaluation of the Project and in planning future research activities.

4-4 Impact

“Improvement of preventive and therapeutic methods for diarrhoeal diseases” is still at the starting point. It will take more time for the benefits from the research findings at NICED through the Project to be of direct benefits to the local people.

But the Project made the following positive impacts:

(1) Organization of In-country Training

In-country training, entitled “Molecular epidemiology of diarrhoeal diseases with special reference to cholera”, has been organized since 2000 with the help of Japanese short-term experts. Trainees came from several States. They were given lectures and had a chance for hands-on training for 10 days at NICED. These trainees will be useful as contact scientists in establishing the national network with a view to creating nationwide database for control of diarrhoeal diseases.

(2) Quick Response to Cholera Outbreaks

During the last few years, six cholera outbreaks occurred in Orissa, Gujarat, Kerala and West Bengal. The Government of India and the State Governments requested NICED to investigate these outbreaks. NICED scientists visited the affected areas and identified the aetiologic agent and mode of transmission, rationalized treatment policy and advised local health staff on tackling and containing the outbreaks. Upgrading the NICED laboratory helps the NICED scientists to understand the molecular epidemiology of cholera better.

(3) Organization of Third-country Training Programmes

With upgraded capacity of NICED laboratory and its scientists, JICA considers NICED a Center of Excellence capable of providing “Third-country training”, which will be initiated next year. This programme will enable new skills and techniques for control of diarrhoeal diseases to be transferred to other developing countries. (South-south collaboration)

(4) Recognition of NICED

As a result of successful collaboration between JICA and NICED, NICED scientists published excellent original scientific papers. NICED has been recognized as a WHO Collaborating Center for *V. cholerae* as well as for *vibriophages*. NICED has been declared as a Center of Excellence by the Ministry of Health and Family Welfare of the Government of India. One NICED scientist (Dr. G. B. Nair) has been elected as a Foreign Member of the National Academy of Sciences USA.

(5) Career Advancement of Scientists

Successful execution of the Project and increased research capability and productivity of scientists result in substantial career advancement for many NICED scientists. This was also indicated through Japanese scientists. Thus association between Indian and Japanese scientists is mutually benefited.

4-5 Sustainability

During the study, sustainability was evaluated from the following two aspects:

(1) Financial Aspects

Before starting the Project, the financial situation of NICED was a major concern from the Japanese side. It was reported that they struggled to maintain equipment and purchase reagents and consumables.

During the past five years, the situation has greatly improved. NICED can maintain equipment obtained through the Japanese Inputs with its own financial resources, and purchase reagents and consumables for itself. Even some major equipment such as electron microscope and confocal microscope has been purchased from its own resources.

Financial inputs from the ICMR to NICED during the tenure of the Project as seen steep increase in successive years. (Figure 2)

(2) Human Resource Development Aspects

So far, all scientists trained in Japan returned to NICED and continue their research activities, which has contributed to proper transfer of technology from advanced Japanese laboratories.

Research environment of NICED highly motivates its scientists, who are proud of their own activities and try to achieve self-reliance and to be recognized internationally.

If this situation continues, Sustainability will certainly be ensured.

5. RECOMMENDATIONS AND LESSONS LEARNED

On the basis of the final evaluation, the Team has made the following recommendations.

(1) Clarification of How the Achievement of the Project Will Benefit the Local People

NICED is now recognized as an authority on prevention of diarrhoeal diseases through the five-year JICA-NICED Project. What is required next is to plan clearly and implement how its research activities will benefit the local people: what is to be done and what is to be achieved in future years.

(2) Public Relations of the Project

Although some efforts have been made by JICA and NICED to publicize the results achieved, further efforts should be made to disseminate information on research outputs, directed especially to the Japanese taxpayers, so that they understand inputs from JICA are useful to the local people.

Indian laboratories in general and NICED laboratory in particular possess high levels of expertise in tropical diseases in developing countries. An exposure of Japanese scientists to tropical diseases through a 2-week course would provide rich and unique experience to them. JICA could consider supporting such training workshops at NICED.

(3) Lessons Learned

The key factors which have helped in achieving the unqualified success of the Project have been the mutual appreciation of the strengths of the scientists. Both sides have collaborative spirits rather than an attitude of patronization, and cementing friendship. The Project is a model of a successful bilateral collaboration and has contributed towards further technical and cultural relationship between the two countries.

6. ACKNOWLEDGEMENT

The Team wishes to place on record the sincere appreciation of the courtesy and hospitality extended to the members by the NICED staff and the concerned Indian authorities including the Government of West Bengal, the Union Ministry of Health and Family Welfare, the Department of Economic Affairs of the Union

Ministry of Finance, and the Indian Council of Medical Research.

The cordial relationship between the Japanese and the Indian counterparts rendered the task of evaluation pleasant and welcome. A gratifying feature was the level of success of the collaboration on a basis of friendship and mutual respect.

PDM₀

Project Name: Prevention of Emerging Diarrheal Diseases

Duration: from February 1998 to January 2003

Target Area: Kolkata, India

Target Group: Habitat in Target Area

Date: 19 December 1997

Narrative Summary	Objectively Verifiable Indicators	Means of Verification	Important Assumptions
<p>Overall Goal Improvement of preventive and therapeutic methods for diarrheal diseases</p>	<ol style="list-style-type: none"> Mortality rate Morbidity rate 	<ol style="list-style-type: none"> National health statistics State health statistics Annual reports about the current health situation 	<ol style="list-style-type: none"> Government policy will not be changed New therapeutic methods will be extended to other institutes.
<p>Project Purpose Technology will be developed and established for emerging diarrheal diseases at the National Institute of Cholera and Enteric Diseases (NICED).</p>	<ol style="list-style-type: none"> No. of scientific papers No. of vaccine candidate strains No. of trials on safety of developed vaccines No. of animal model trials 	<ol style="list-style-type: none"> ICMR annual reports NICED annual reports Journals 	<ol style="list-style-type: none"> No natural disaster happened. Government relies on new therapeutic method. Epidemic investigation is performed at national level. Constant accuracy of statistics
<p>Outputs</p> <ol style="list-style-type: none"> Effective identification of enteric pathogens is developed up to molecular level. Newer therapeutic approaches are developed for emerging diarrheal diseases. Serumbank concerning diarrheal diseases is established. Drug resistance on enteropathogenic organisms can be monitored effectively. Referral library for the strains and diagnostic serum of enteropathogens is established. Etiologic monitoring of diarrheal pathogens is conducted in human and reservoir. Network of relevant hospitals is improved. Project management is well done. 	<ol style="list-style-type: none"> No. of clinical trials No. of pilot projects No. of investigated epidemics No. of papers published No. of presentations No. of collaborative works among divisions No. of characterized strains No. of developed diagnostic tests No. of newly developed methods No. of referral service extended 	<ol style="list-style-type: none"> NICED annual reports Published articles Hospital records Survey data 	<ol style="list-style-type: none"> Relation between national and state governments is stable Good collaboration is kept with other institutes. More staffs are assigned at NICED. More staffs are trained at NICED.
<p>Activities</p> <ol style="list-style-type: none"> 1-1 To survey to obtain clinical data of patients with diarrhea caused by emerging pathogens 1-2 To work for differentiation of newer pathogens (div. of microbiology) 1-3 To examine serotype of enteric pathogens 1-4 To analyze enteric pathogens in molecular level (DNA typing) 1-5 To design suitable researching methods 1-6 To conduct methods mentioned 1-5 2-1 To design new therapeutic approaches of emerging diarrheal diseases 2-2 To implement new therapeutic approaches to relevant hospitals 2-3 To collect data from patients who are treated by new therapy 2-4 To evaluate efficacy of new therapeutic approaches 3-1 To collect, analyze, classify and stock the serum from the diarrheal pathogens 3-2 To improve system for serum bank 4-1 To improve the method of drug resistant tests 4-2 To transfer technique of monitoring drug resistance in molecular level 5-1 To arrange storage for strains and diagnostic serum of enteric pathogens 5-2 To introduce filing system 6-1 To select fields for epidemiological research in human and reservoir 6-2 To design field research work 6-3 To collect epidemiological data 6-4 To implement research work 7-1 To collect clinical information from relevant hospitals frequently 7-2 To introduce new methods of diagnosis and therapy 8-1 To organize project management committees for scientific advisory, project monitoring, etc. 	<p>Inputs (Japan)</p> <ol style="list-style-type: none"> Experts <ol style="list-style-type: none"> Long-term Chief Advisor: 60M/M Project Coordinator: 60M/M Short-term, in the following fields: Microbiology Molecularbiology Epidemiology Endoscopy Clinical Medicine <p>and other related fields mutually agreed upon as necessary</p> <ol style="list-style-type: none"> Counterpart training in Japan 2 or 3 counterparts yearly during project period in the fields of Microbiology, Molecularbiology, Clinical Medicine, Virology, Parasitology, and other related fields mutually agreed upon as necessary Equipment Microbiology, Epidemiology, Clinical Medicine, Central Instrument Room, Animal Laboratory, Library, etc. <p>(India)</p> <ol style="list-style-type: none"> Administrator Counterparts-Scientists and Technicians in the fields of Microbiology, Epidemiology, Clinical Medicine, Virology, Parasitology, Immunology, Pathophysiology, Electromicroscopy and other related fields mutually agreed upon as necessary Land, Building and Facilities Operating Costs 	<ol style="list-style-type: none"> Budget allocation for NICED is enough to cover all activities. Trained counterparts stay at work during the Project period. At least one new pathogen will be found. <p>Preconditions</p> <ol style="list-style-type: none"> Government does not oppose research work in the Project. State government and relevant hospitals are cooperative. Residents cooperate the Project. 	

PDM_E

Project Name: Prevention of Emerging Diarrheal Diseases

Duration: from February 1998 to January 2003

Target Area: Kolkata, India

Target Group: Habitat in Target Area

Date: 23 August 2002

Narrative Summary	Objectively Verifiable Indicators	Means of Verification	Important Assumptions
<p>Overall Goal Improvement of preventive and therapeutic methods for diarrheal diseases in the Target Area</p>	<p>1. No. of vaccination in the Target Area</p>	<p>1. State health statistics 2. Annual reports about the current health situation</p>	<p>1. Government policy will not be changed. 2. No natural disaster happened. 3. Access to safe water and food improved.</p>
<p>Project Purpose Technology will be developed and established for emerging diarrheal diseases at the National Institute of Cholera and Enteric Diseases (NICED).</p>	<p>Comparing situation before Project with current situation from several views such as: 1. No. of scientific papers 2. No. of vaccine candidate strains 3. No. of trials on safety of developed vaccines 4. No. of animal model trials</p>	<p>1. ICMR annual reports 2. NICED annual reports 3. Journals</p>	<p>1. State Government relies on new therapeutic method. 2. Constant accuracy of statistics</p>
<p>Outputs 1. Effective identification of enteric pathogens is developed up to molecular level. 2. Newer therapeutic approaches are developed for emerging diarrheal diseases. 3. Serum bank concerning diarrheal diseases is established. 4. Drug resistance on enteropathogenic organisms can be monitored effectively. 5. Referral library for the strains and diagnostic serum of enteropathogens is established. 6. Etiologic monitoring of diarrheal pathogens is conducted in human and reservoir. 7. Network of relevant hospitals is improved. 8. Project management is well done.</p>	<p>Comparing situation before Project with current situation from several views such as: 1. No. of clinical trials 2. No. of pilot projects 3. No. of investigated epidemics 4. No. of papers published 5. No. of presentations 6. No. of collaborative works among divisions 7. No. of characterized strains 8. No. of developed diagnostic tests 9. No. of newly developed methods 10. No. of referral service extended</p>	<p>1. NICED annual reports 2. Published articles 3. Hospital records 4. Survey data</p>	<p>1. Relation between National and State Government is stable. 2. Good collaboration is kept with other institutes. 3. More staffs are assigned at NICED. 4. More staffs are trained at NICED.</p>
<p>Activities 1-1 To survey to obtain clinical data of patients with diarrhea caused by emerging pathogens 1-2 To work for differentiation of newer pathogens (div. of microbiology) 1-3 To examine serotype of enteric pathogens 1-4 To analyze enteric pathogens in molecular level (DNA typing) 1-5 To design suitable researching methods 1-6 To conduct methods mentioned 1-5 2-1 To design new therapeutic approaches of emerging diarrheal diseases 2-2 To implement new therapeutic approaches to relevant hospitals 2-3 To collect data from patients who are treated by new therapy 2-4 To evaluate efficacy of new therapeutic approaches 3-1 To collect, analyze, classify and stock the serum from the diarrheal pathogens 3-2 To improve system for serum bank 4-1 To improve the method of drug resistant tests 4-2 To transfer technique of monitoring drug resistance in molecular level 5-1 To arrange storage for strains and diagnostic serum of enteric pathogens 5-2 To introduce filing system 6-1 To select fields for epidemiological research in human and reservoir 6-2 To design field research work 6-3 To collect epidemiological data 6-4 To implement research work 7-1 To collect clinical information from relevant hospitals frequently 7-2 To introduce new methods of diagnosis and therapy at relevant hospitals 7-3 New methods utilized by relevant hospitals 8-1 To organize project management committees for scientific advisory, project monitoring, etc.</p>	<p>Inputs (Japan) 1. Experts a. Long-term Chief Advisor: 12M/M Clinical Medicine: 20M/M Project Coordinator: 60M/M b. Short-term, in the following fields: Chief Advisor: 5.07M/M Microbiology: 4.40M/M Molecularbiology: 7.33M/M Epidemiology: 1.23M/M Virology: 1.33M/M 2. Counterpart Training in Japan Microbiology: 6 trainees Virology: 3 Immunology: 1 Clinical Medicine: 1 Electron Microscopy: 2 3. Experts in third-country Cholera Immunology from Thailand Molecular Microbiology from Bangladesh 4. Counterpart Training in third-country Primary Health Care Management in Thailand 5. Equipment (India) 1. Administrator 2. Counterparts-Scientists and Technicians in the fields of: Microbiology Virology Epidemiology Biochemistry Immunology Clinical Medicine Pathophysiology Electron Microscopy 3. Land, Building and Facilities 4. Operating Costs</p>	<p>1. Budget allocation for NICED is enough to cover all activities. 2. Trained counterparts stay at work during the Project period. 3. At least one new pathogen will be found.</p> <p>Preconditions 1. Government does not oppose research work in the Project. 2. State government and relevant hospitals are cooperative. 3. Residents cooperate the Project.</p>	

General Implementation of the Project

	L/T Expert	S/T Expert	C/P Trainee	Place of C/P Training	3rd Expert/Counterpart	Others
1998~1999 (H10)	Mrs. Miyuki Harui (Project Coordinator) (1998.3.15~2001.3.14)	Dr. Yoshifumi Takeda (Chief Advisor) (1998.4.16~1998.5.5)	Dr. G. B. Nair (Molecular Microbiology) (1998.2.3~1998.3.27)	International Medical Center of Japan		
	Dr. Shinji Yamasaki (Chief Advisor) (1998.9.20~1999.9.28)	Dr. Hisao Kurazono (Molecular Microbiology) (1999.1.2~1999.1.29)	Dr. S. K. Niyogi (Molecular Microbiology) (1999.3.1~1999.3.3)	International Medical Center of Japan		
		Dr. Yoshifumi Takeda (Microbiology) (1999.2.2~1999.2.9)	Dr. T. N. Naik (Virology) (1998.7.27~1999.3.30)	Sapporo Medical University		
		Dr. Yoshihiro Takashima (Epidemiology) (1999.2.25~1999.3.17)				
1999~2000 (H11)		Dr. Shinji Yamasaki (Chief Advisor) (1999.11.13~2000.3.25)	Mr. R. B. Basu (1999.11.16~2000.3.13)	National Institute of Infectious Disease	Dr. Aparna Pandey(3CD*) (1999.8~2000.6) (Thailand/Primary Health Care Management)	Project Consultation Team (1999.9.23~10.1) Dr. Y. Takeda (Leader), Mr. T. Ishizaki (Cooperation Planning)
		Dr. Shuji Nakata (Virology) (1999.11.22~1999.12.9)	Dr. M. K. Saha (Virology) (2000.3.28~2001.1.27)	International Medical Center of Japan		In-Country Training Programme (Molecular Epidemiology of Diarrhoeal Diseases with Special Reference to Cholera) (2000.11.27~2000.12.6)
		Dr. Hisao Kurazono (Epidemiology) (2000.1.4~2000.1.19)				
		Dr. Taeko Dohi (Molecular Biology) (2000.1.21~2000.2.4)				
2000~2001 (H12)	Mr. Shinji Takeno (Project Coordinator) (2001.2.8~2003.2.7)	Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2000.6.4~2000.6.30)	Dr. T. Biswas (Immunology) (2000.8.21~2001.2.20)	International Medical Center of Japan	Dr. Wanpen Chaicumpa(3ER**) (2001.2.12~2001.2.17) (Thailand/Cholera Immunology)	
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2000.9.24~2000.10.2)	Dr. T. Krishnan (Virology) (2000.8.28~2001.6.26)	Sapporo Medical University		
		Dr. Hisao Kurazono (Microbiology) (2000.11.23~2000.12.2)				
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2000.11.23~2000.12.15)				
		Dr. Nobumichi Kobayashi (Virology) (2001.1.22~2001.2.1)				
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2001.2.6~2001.2.20)				
		Dr. Hiroyoshi Kojima (Microbiology) (2001.2.10~2001.2.17)				
2001~2002 (H13)	Dr. Hiroyoshi Kojima (Clinical Medicine) (2001.5.30~2003.1.31)	Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2001.6.29~2001.7.10)	Dr. D. R. Saha (Electron Microscope) (2001.5.24~2001.11.24)	Okayama Prefecture University	Dr. S. M. Faruque(3ER**) (2001.12.26~2002.1.15) (Bangladesh/Molecular Microbiology)	Project Consultation Team (2001.8.12~8.18) Dr. Y. Takeda (Leader/~/8.25), Dr. H. Hayashi (Microbiology), Dr. S. Yamasaki (Molecular Biology), Ms. Y. Sadamoto (Cooperation Planning)
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2001.10.29~2001.11.7)	Dr. B. L. Sarkar (Microbiology) (2001.7.9~2002.2.8)	Osaka Prefecture University		
		Dr. Hisao Kurazono (Microbiology) (2001.10.29~2001.11.7)	Mr. S. Talukder (Microbiology) (2001.11.19~2002.4.27)	Osaka Prefecture University		
		Dr. Yoshifumi Takeda (Microbiology) (2001.12.22~2001.12.28)				In-Country Training Programme (2001.11.1~2001.11.10)
		Dr. Shuji Nakata (Virology) (2002.2.19~2002.2.28)				
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2002.2.24~2002.3.5)				
		Dr. Yoshifumi Takeda (Microbiology) (2002.2.24~2002.3.5)				
2002~2003 (H14)		Dr. Shinichi Miyoshi (Microbiology) (2002.8.11~9.19)	Dr. P. Dutta (Clinical Medicine) (2002.10~)	Shizuoka Prefectural General Hospital		In-Country Training Programme (2002.8.12~2002.8.21)
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2002.8.11~8.20)	Dr. A. N. Ghosh (Electron Microscopy) (2002.10~)	Osaka University		Final Evaluation Team(2002.9.8~9.14) Dr. Y. Takeda (Leader), Dr. H. Hayashi (Microbiology), Ms. Y. Sadamoto (Cooperation Planning)
		Dr. Sumio Shinoda (Microbiology) (2002.9.30~10.8)	Dr. T. Ramamurthy (Microbiology) (2002.10~)	Osaka Prefecture University		Dr. S. P. Tripathy(Project Evaluation/~/9.8~9.13)
		Dr. Yoshifumi Takeda (Microbiology) (2003.1)				Mr. N. Take(Project Evaluation/~/8.31~9.15)
		Dr. Shinji Yamasaki (Molecular Biology) (2003.1)				*3CD : Third Country Counterpart(Dispatch) **3ER : Third Country Expert(Receive) Third Country Training Programme (Workshop on current practices in the management of acute diarrhoea)

Project Budget

	1997	1998	1999	2000	2001	2002	Total(Yen/1,000)	Total(Rs.)
Equipment								
• Local Procurement	0	3,726	38,000	46,165	53,090	16,950	157,931	63,172,400
• Procurement in Japan	0	48,000	8,904	8,017	2,305	0	67,226	26,890,400
• Expert Equipment	879	2,239	3,244	14,668	9,808	423	31,261	12,504,400
General Budget	0	3,401	5,232	5,413	4,707	3,290	22,043	8,817,200
Total(Yen/1,000)	879	57,366	55,380	74,263	69,910	20,663	278,461	111,384,400
Total(Rs.)	351,600	22,946,400	22,152,000	29,705,200	27,964,000	8,265,200	111,384,400	

List of Equipment

1998

Serial No.	Name	Specification	No.	Department
PL9801	Computers & related Accessories	Vision Pentium II (233 MHz)	3	Microbiology
PL9802	Fax Modem	33.6kbps	2	Microbiology
PL9803	Browser Soft	Netscape	1	Project Office
PL9804	Computer Table	CF804	3	Microbiology
PL9805	UPS	4.0VA	3	Microbiology
PL9806	Vehicle (Sedan car)	Suzuki Maruti Esteem VX	1	General
PL9807	Photocopy Machine	RICOH	1	Microbiology
PL9808	Facsimile Machine	CANON B-150	1	Project Office
PL9809	Stabilizers	CVT, 500VA	5	Microbiology
PJ9801	Pulsed Field Gel Electrophoresis System	Bio-Rad / CHEF Mapper XA Chiller System	1	Microbiology
PJ9802	Ussing Chamber System	World precision / USSIL and Accessories	1	Pathophysiology
PJ9803	Automated DNA Sequencing System	Perkin Elmer / ABI PRISM310 Genetic Analyzer	1	Microbiology
PJ9804	Protein Purification System	Bio-Rad / Automated Biological System	1	Microbiology
PJ9805	Ultrafiltration Unit	Millipore	1	Microbiology
PJ9806	Ultra Low Temperature Deep Freezer	Heraeus / Model HFU86-450	1	Microbiology
PJ9807	UV Spectrophotometer	Hitachi / Model UV200	1	Parasitology
PJ9808	Water Purification Unit	Millipore	1	Microbiology
PJ9809	Table Top Refrigerated Centrifuge	Heraeus / Model Biofuge Stratos (#75005282)	3	Microbiology Parasitology
PJ9810	PCR Machine (Thermal Cycler)	Perkin Elmer / N803 - 0002	1	Microbiology
PJ9811	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad / Mini-sub Cell GT PowerPac System	1	Microbiology
PJ9812	Carbon Dioxide Incubator	EYELA, CH - 16M	1	Microbiology
PJ9813	Microbiological Incubator	Heraeus / Microbiological Incubator Model B12	2	Microbiology
PJ9814	Dry Bath Block Incubator	Fisher / Economical Dry Bath Incubators	1	Microbiology
PJ9815	Heavy Duty Autoclaves	TOMY SEIKO / 1 Model SS2452/SS325	4	Microbiology

1999

PL9901	High speed centrifuge	Sorvall	1	Immunology
PL9902	Gel Doc 2000 Gel Doc System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9903	Gel Doc 2000 Gel Doc System	Bio-Rad	1	Parasitology
PL9904	Transilluminator	Bio-Rad	1	Parasitology
PL9905	Transilluminator	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9906	Transilluminator	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9907	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9908	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Parasitology
PL9909	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9910	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Biochemistry
PL9911	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9912	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Virology
PL9913	Submarine Gel Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Parasitology
PL9914	Vacuum Blotter System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9915	Bio-Dot apparatus	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9916	Fraction collector with rack	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9917	Power Pac	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9918	Power Pac	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9919	Hydro Teck Gel Drying system	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9920	Mini Protean 3 Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9921	Mini Protean 3 Electrophoresis System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9922	Gene Linker Chamber	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9923	Mini Transblot Module	Bio-Rad	1	Microbiology
PL9924	PCR (Thermal Cycler)	Perkin Elmer 2400	1	Pathophysiology
PL9925	PCR (Thermal Cycler)	Perkin Elmer 9700	1	Microbiology
PL9926	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Stratos	1	Biochemistry
PL9927	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Stratos	1	Pathophysiology
PL9928	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Stratos	1	Microbial genetics
PL9929	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Stratos	1	Parasitology
PL9930	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Stratos	1	Virology
PL9931	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Fresco	1	Microbiology
PL9932	Table Top Refrigerate Centrifuge	Biofuge Fresco	1	Microbiology
PL9933	Table Top Refrigerate Centrifuge	Labofuge 400R	1	Microbiology
PL9934	Carbon Dioxide Incubator	Heraeus	1	Pathophysiology
PL9935	Hybridization Oven (Roter Type)	Heraeus	1	Microbiology

PL9936	Transilluminator	Fb-TIV-88-220	1	Microbiology
PL9937	Temperature Adjustable Thermoblock with Shaker	Bio-Med	1	Microbiology
PL9938	Temperature Adjustable Thermoblock with Shaker	Bio-Med	1	Pathophysiology
PL9939	Micro Centrifuge	Bio-Med Industries	1	Microbiology
PL9940	Vortex mixture	Bio-Med Industries	9	Microbiology
PL9941	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Microbiology
PL9942	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Microbiology
PL9943	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Microbiology
PL9944	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Microbiology
PL9945	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Microbiology
PL9946	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Immunology
PL9947	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Pathophysiology
PL9948	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Virology
PL9949	Vortex mixture	Bio-Med Industries	1	Parasitology
PL9950	UV Handy Monitor	Fisher	1	Microbiology
PL9951	PH Meter	Corning,400series	2	Microbiology
PL9952	PH Meter	Corning,400series	1	Microbiology
PL9953	PH Meter	Corning,400series	1	Pathophysiology
PL9954	PH Meter	Corning,400series	1	Parasitology
PL9955	PH Meter	Corning,400series	1	Immunology
PL9956	Shaker Water Bath	Bio-Med Industries	1	Parasitology
PL9957	Shaker Water Bath	Bio-Med Industries	1	Virology
PL9958	Shaker Water Bath	Bio-Med Industries	1	Pathophysiology
PL9959	Circulation Water Bath	Fisher	1	Microbiology
PL9960	Circulation Water Bath	Fisher	1	Microbiology
PL9961	Magnetic Stirrer	Fisher	1	Microbiology
PL9962	Magnetic Stirrer	Fisher	1	Microbiology
PL9963	Polaroid System	Fisher	1	Microbiology
PL9964	Precision Balance	Sartorius Model-BL150	1	Microbiology
PL9965	Precision Balance	Sartorius Model-BL150	1	Pathophysiology
PL9966	Precision Balance	Sartorius Model-BL150	1	Immunology
PL9967	Top Pan Balance	Sartorius Model-BL310	1	Microbiology
PL9968	Top Pan Balance	Sartorius Model-BL310	1	Pathophysiology
PL9969	Top Pan Balance	Sartorius Model-BL310	1	Microbiology
PL9970	Top Pan Balance	Sartorius Model-BL310	1	Parasitology
PL9971	Top Pan Balance	Sartorius Model-BL310	1	Microbiology
PL9972	Semi Micro Balance	Sartorius,BP21	1	Microbiology
PL9973	Semi Micro Balance	Sartorius,BP21	1	Microbiology
PL9974	Speed Vac System	Savant	1	Microbiology
PL9975	Speed Vac System	Savant	1	Pathophysiology
PL9976	Speed Vac System	Savant	1	Parasitology
PL9977	Ice Making Machine	Simag	1	Microbiology
PL9978	Laminar Flow Hood	Heto Holten	1	Microbiology
PL9979	Laminar Flow Hood	Heto Holten	1	Pathophysiology
PL9980	Laminar Flow Hood	Heto Holten	1	Microbiology
PL9981	Computers & related accessories	Siemens	1	Clinical

PL9982	Computers & related accessories	Siemens	1	Epidemiology
PL9983	Computers & related accessories	Siemens	1	Epidemiology
PL9984	Computer software	SPSS, Binary Semantics	1	Epidemiology
PL9985	Microplate Spectrophotometer	Bio-Rad	1	Immunology
PL9986	Portable Vacuum Pump	Millipore	1	Microbiology
PL9987	Portable Vacuum Pump	Millipore	1	Microbiology
PL9988	Portable Vacuum Pump	Millipore	1	Pathophysiology
PL9989	Portable Vacuum Pump	Millipore	1	Parasitology
PL9990	Refrigerator	BPL	1	Microbiology
PL9991	Refrigerator	BPL	1	Microbiology
PL9992	Refrigerator	BPL	1	Microbiology
PL9993	UPS - for ABI Sequencer	Neumeric	1	Microbiology
PL9994	UPS- for Spectrophotometer	TVS-300VA	1	Parasitology
PL9995	Stabilizer	5KVA - Omega	1	Microbiology
PL9996	Stabilizer	5KVA - Omega	1	Microbiology
PL9997	Stabilizer	3KVA - Omega	1	Microbiology
PL9998	Stabilizer	Halboss	1	Microbiology
PL9999	Stabilizer	Halboss	1	Microbiology
PL99100	Table for Laminar Flow Hood		1	Microbiology
PL99101	Table for Laminar Flow Hood		1	Microbiology
PL99102	Table for Laminar Flow Hood		1	Pathophysiology
PJ9901	Dust covers for Sartorius balances	Model 150 & 310	8	Microbiology, Pathophysiology, Immunology, Parasitology
PJ9902	Shade Caster complete with Rotacotta	Joel Model-400	1	Electron Microscopy
PJ9903	Infantmeter (for field use)	Tanita	1	Epidemiology
PJ9904	Infantmeter (for field use)	Tanita	1	Epidemiology
PJ9905	Beam Balance (Adults & children)	A&D	1	Epidemiology
PJ9906	Beam Balance (Adults & children)	A&D	1	Epidemiology
PJ9907	Extention meter (infant)	Muranaka	1	Epidemiology
PJ9908	Extention meter (infant)	Muranaka	1	Epidemiology
PJ9909	Extention meter (children)	Kawe	1	Epidemiology
PJ9910	Extention meter (children)	Kawe	1	Epidemiology
PJ9911	Inverted Microscope	Olympus	1	Pathophysiology
PJ9912	Autopipette	Eppendorf	12	All Departments
PJ9913	Freezer	Sanyo	1	Microbiology
PJ9914	Freezer	Sanyo	1	Microbiology
PJ9915	Freezer	Sanyo	1	Virology

PJ9916	Freezer	Sanyo	1	Pathophysiology
PJ9917	Freezer	Sanyo	1	Parasitology
PJ9918	Freezer	Sanyo	1	Biochmistry
PJ9919	Hybridization Oven (Tilting type)	HB	1	Microbiology
PJ9920	Incubator	Iuchi	1	Microbiology
PJ9921	Incubator	Iuchi	1	Microbiology
PJ9922	Incubator	Iuchi	1	Pathophysiology

2000

PL0001	Ultracentrifuge with accessories	Sorvall, Model LW 80K	1	Centrifuge Room
PL0002	High Speed Cooling Centrifuge	Sorvall - Kendro	1	Centrifuge Room
PL0003	IPG Phore 2-D Electrophoresis	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0004	Protein 2-D Spot Cutter System	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0005	Electroporation Gene Pulser II system	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0006	Slide Maker, Model Polaroid HR600	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0007	Full Gene MicroSeq Analysis Software Kit	Perkin Elmer	1	Microbiology
PL0008	PCR (Thermal Cycler) DNA	Perkin Elmer	1	Virology
PL0009	Cryofixation system including freeze substitution system	Leica, Model EM GPC	1	Electron Microscopy
PL0010	Refrigerated Table Top Micro Centrifuge	Kendro - Hereaus	1	Microbiology
PL0011	Rotar for BiofugeStratos (Hereaus centrifuge)	Kendro - Hereaus	1	Microbiology
PL0012	Rotar for BiofugeStratos (Hereaus centrifuge)	Kendro - Hereaus	1	Microbiology
PL0013	Ultra-low temperature (-85) deep freezer	Kendro-Hereaus	1	Virology (ID Hospital)
PL0014	Hoeffer mini vertical gel electrophoresis system	Amersham Pharmacia	1	Virology
PL0015	Hoeffer SE400 sturdier vertical slab electrophoresis unit	Amersham Pharmacia	1	Virology
PL0016	GNA - 100 submarine unit	Amersham Pharmacia	1	Virology
PL0017	Hoeffer power supply	Amersham Pharmacia	1	Virology
PL0018	Hoeffer UVC 500 UV Cross Linker	Amersham Pharmacia	1	Virology
PL0019	Hybridisation Oven	Amersham Pharmacia	1	Virology
PL0020	Redifrac fraction collector	Amersham Pharmacia	1	Microbiology
PL0021	High resolution weighing platform balance	Sartorius	1	Clinical(ID)
PL0022	High resolution weighing platform balance	Sartorius	1	Clinical(BCR)
PL0023	Orbital Shaker	Applied Quality Services	1	Microbiology
PL0024	Orbital Shaker	Applied Quality Services	1	Pathophysiology
PL0025	Orbital Shaker	Applied Quality Services	1	Microbiology
PL0026	Centrifugal vacuum concentrator	Eppendorf, Model 530	1	Virology
PL0027	Ultrasonic Liquid Processor with accessories	Bio-Scan, Ultrasonic 250,	1	Microbiology
PL0028	Horizontal Gel Electrophoresis Apparatus with Accessories	Gibco -BRL, Horizon 58&11.14	1	Microbiology
PL0029	Cooled incubator	WB Binder, ATP KB Series	1	Virology
PL0030	Sequencher software	Gene Codes Corporation, USA	1	Virology
PL0031	Air conditioned 4WD	Toyota Qualis, Turbo 4WD	1	Project Office
PL0032	Laptop computer	Compaq	1	Microbiology
PL0033	Laptop computer	Compaq	1	Project Office

PL0034	Desktop Computer System with UPS+AVR	Compaq, Pentium III,	1	Microbiology
PL0035	Desktop Computer System with UPS+AVR	Compaq, Pentium III,	1	Virology
PL0036	HP Laser Printer, 12,000 DPI output printer,	Hewlett Packard	1	Microbiology
PL0037	HP Scanner	Hewlett Packard	1	Microbiology
PL0038	Tube Agitator (Vortexer)	Bhanu Scientific Instruments	1	Virology
PL0039	Tube Agitator (Vortexer)	Bhanu Scientific Instruments	1	Virology
PL0040	Vacuum pump	Millipore	1	Virology
PJ0001	Inverted Phase Contrast Microscope	Olympus,	1	Microbiology
PJ0002	Precision water bath	Eyela, Model no. NTB-221	1	Virology
PJ0003	Precision water bath	Eyela, Model no. NTB-221	1	Virology
PJ0004	Ultrasonic cleaner heated	Eyela, Model no. AU-90C	1	Virology
PJ0005	Ultrasonic Pipet washer	Eyela, Model no. AU-150C	1	Virology
PJ0006	Freeze Dryer	Eyela, Compact Freeze Dryer,	1	Microbiology
PJ0007	Autoclave	Tomy Seiko, Model no. SS-325	1	Virology
PJ0008	DIGI Block/Digital block heater	Sigma	1	Virology
PJ0009	PCR workstation -DNA	Sigma	1	Virology
PJ0010	Vortex mixture	Sigma, Thermalyne Maxi-MixII	1	Virology
PJ0011	Vortex mixture	Sigma, Thermalyne Maxi-MixII	1	Virology
PJ0012	Vortex mixture	Sigma, Thermalyne Maxi-MixII	1	Virology
PJ0013	Omega 2.0 for PC	Oxford Molecular Group Inc.	1	Virology

2001

PL0101	Sub-Cell GT Electrophoresis apparatus	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0102	Sub-Cell GT Electrophoresis apparatus	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0103	Mini PIII apparatus with Power Pac300.	Bio-Rad	1	Virology
PL0104	Gel Documentation System with computer accessories	Bio-Rad	1	Pathophysiology
PL0105	Fraction collector with accessories and tubes	Bio Rad	1	Microbiology
PL0106	Gel Drier	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0107	Microplate immuno washer	Bio-Rad	1	Microbiology
PL0108	Gene Quant Pro RNA/DNA Calculator	Amersham	1	Virology
PL0109	Gene Quant Pro RNA/DNA Calculator	Amersham	1	Microbiology
PL0110	Gene Quant Pro RNA/DNA Calculator	Amersham	1	Microbiology
PL0111	Rotary flash evaporator	Adv.Scfic. (Buchilab)	1	Pathophysiology
PL0112	Rotary flash evaporator	Adv.Scfic. (Buchilab)	1	Microbiology
PL0113	Small sonicator	Adv.Scfic- Labplant	1	Parasitology
PL0114	Small sonicator	Adv.Scfic- Labplant	1	Pathophysiology
PL0115	ABI Prism Real time PCR with accessories, Laptop Computer	Perkin Elmer	1	Microbiology
PL0116	Softwares for DNA Sequencer, Desktop Computer	Perkin Elmer	1	Microbiology
PL0117	Gene-Amp PCR system- 9700+ basemodule+96 wellsample box module	Perkin Elmer/AppliedBio	1	Microbiology
PL0118	Mini-API System.Voltage 220-240.	bioMerieux India	1	Microbiology
PL0119	Ussing Chamber (Accessories)	World Precision/Suravi	1	Pathophysiology
PL0120	Eppendorf centrifuge mini spin plus	Eppendorf	1	Virology
PL0121	Eppendorf centrifuge mini spin plus	Eppendorf	1	Microbiology
PL0122	Refrigerated	Eppendorf	1	Pathophysiology
PL0123	Millipore Elix-3 purification System with accessories.	Millipore	1	Microbiology
PL0124	Millipore peristaltic pump, model 7015 - 72 (Master Flex)	Millipore	1	Microbiology
PL0125	Millipore peristaltic pump, model 7015 - 72 (Master Flex)	Millipore	1	Parasitology
PL0126	Millipore vacuum suction pump	Millipore	1	Immunology
PL0127	Millipore vacuum suction pump	Millipore	1	Parasitology
PL0128	Lasergene 99 Sequence Analysis Package for Windows 95	Techno Concept	1	Microbiology

PL0129	Alpha server ES40 based work station+ accessories for GCG package and graphic work(digital)	Compaq	1	Virology
PL0130	Apple PowerMac Computer+deskjet printer+UPS	Power iMac/Rahul Comm.	1	Virology
PL0131	LCD	Sony-Leonid Vision	1	Clinical
PL0132	Portable USG. SonoSite	ATL-Philips	1	Clinical
PL0133	Ultra Low Deep Freezer - 152C, Model 1155,-128 lits.	Sanyo-Biotech Inst	1	Microbiology
PL0134	GCG Wisconsin package	Abacus Digital Pvt.Ltd	1	Virology
PL0135	OES Video System	Olympus	1	Clinical
PJ0101	Deep Freezer chest type (-85oC)86 lt. with rack &box	Sanyo	1	Pathophysiology
PJ0102	Autoclave (Tomy)	Tomy, Japan	1	Pathophysiology
PJ0103	Autoclave (Tomy)	Tomy, Japan	1	Parasitology
PJ0104	Autoclave (Tomy)	Tomy, Japan	1	Microbiology
PJ0105	Thermoblock dry bath cool block bath	Iuchi	1	Immunology
PJ0106	Thermoblock dry bath cool block bath	Iuchi	1	Virology

2002

PL0201	Patient Monitoring System		1	Clinical
PL0202	Compact Suction Pump	KV-4	1	Clinical
PL0203	Electro-Surgical Unit	PSD-20	1	Clinical
PL0204	Gel Documentation System	Gel Doc 2000	1	Microbiology
PL0205	Incubator	Shakers 4000	1	Microbiology
PL0206	Incubator	Shakers 4300	1	Microbiology
PL0207	PCR	LightCycler Quick System 330	1	Microbiology
PL0208	PCR	Gene Amp PCR System 9700	1	Microbiology
PL0209	pH Meter		5	Microbiology
PL0210	pH Meter		2	Microbiology
PL0211	UV/Vis Spectrophotometer	Model 6305	1	Microbiology
PL0212	Spectrophotometer	SmartSpec 3000	1	Microbiology
PL0213	Shaker Incubator	BR13FM	1	Microbiology
PL0214	Micro Plate Reader	Bio Rad, Model 550	1	Microbiology
PL0215	Micro Plate Washer	Bio Rad, Model 1575	1	Microbiology
PL0216	Peristaltic Pump	Millipore, XX8023ELO	1	Microbiology
PL0217	Filtration Assembly	Millipore, XI1504700	5	Microbiology

5. 終了時評価ワークショップ発表資料

Inaugural Program on 10th September, 2002 of the JICA/NICED Project Final Evaluation Workshop at NICED at 10 AM.

- 10 AM.
- Welcome speech by Director-NICED
 - Speech by Dr. Lalit Kant, Sr.Dy DG-ICMR
 - Speech by Dr. Y.Takeda, Team Leader, Evaluation Mission Team
 - Remarks by Mr. T.Matsumoto, Asst. Resident Representative, JICA-India office
- Chairman -Dr. Y. Takeda
- Chief guest - Mr. A.Burman, Secretary, Ministry of Health & Family Welfare, Govt. of W.Bengal

TEA BREAK

SCHEDULE of Scientific Session on 10th September, 2002 of the JICA/NICED Project Final Evaluation Workshop at NICED at 10 AM.

- 11 AM:
- Welcome speech by Director-NICED
 - Speech by Dr. Lalit Kant, Sr.Dy DG-ICMR
 - Speech by Dr. Y.Takeda, Team Leader, Evaluation Mission Team
 -
 - Presentation by NICED scientists
- 1.30PM ~ 2.30 PM** Lunch Break
- 2.30PM ~ 5PM** Discussion and Recommendation

List of participants at the on 10th September, 2002 of the JICA/NICED Project Final Evaluation Workshop at NICED at 10 AM.

1. Mr. A. Burman, Secretary, Ministry of Health & Family Welfare, Govt. of W.Bengal
2. Dr. S.P.Tripathy, ex-DG-ICMR
3. Dr. Lalit Kant, Sr.Dy-DG-ICMR
4. Dr. S.K. Bhattacharya, Director, NICED, Kolkata

5. Mr. M.Kawaguchi, Senior Consul, Consulate-General of Calcutta
6. Dr. Y.Takeda, Team Leader, Mission Team
7. Dr. H.Hayashi, Mission member, Japan
8. Ms. Y.Sadamoto, JICA HQ, Japan
9. Mr. T.Matsumoto, Asst. Representative, JICA-India office, New Delhi.
10. Mr. N. Take, JICA Consultant, Japan.
11. Dr. S. Miyoshi, Short term JICA expert
12. Dr. H. Kojima, Long term JICA expert
13. Mr. S. Takeno, Coordinator, JICA Project Office, NICED, Calcutta.
14. Ms.M. Mukherjee, Project Officer, JICA Project Office, NICED, Calcutta

NICED Scientists:

1. Dr. G.B.Nair, Associate Director, ICDDR, B, Dhaka
2. Dr. P.Datta, Deputy Director, Sr. Gr ,NICED, Kolkata
3. Dr. T.N.Naik, Deputy Director, Sr. Gr ,NICED, Kolkata
4. Dr. D.Dutta, Deputy Director, NICED, Kolkata
5. Dr. S.K.Niyogi, Deputy Director, NICED, Kolkata
6. Dr. M.K.Chakrabarti, Deputy Director,NICED, Kolkata
7. Dr. P.Das, Deputy Director, NICED, Kolkata
8. Dr. T.Ramamurthy, Asst. Director, NICED, Kolkata
9. Dr. M.K.Bhattacharya, Asst. Director, NICED, Kolkata
11. Dr. D.Saha, SRO, NICED, Kolkata
12. Dr. T.Biswas, SRO, NICED, Kolkata
13. Dr. B.L.Sarkar, SRO, NICED, Kolkata
14. Dr. D.Sur, SRO, NICED, Kolkata
15. Dr. T.Krishnan, SRO, NICED, Kolkata
16. Dr. R. Nandy, RO,ICMRVirus unit, Kolkata
17. Mr. R.B.Bose, Technical Assistant, NICED, Kolkata
18. Mr. S.Talukdar, Technical Assistant, NICED, Kolkata

JICA-NICED Project Final Evaluation Workshop

Scientific Session:

1. Division of Microbiology: Dr. T. Ramamurthy, Assistant Director
2. Division of Virology: Dr. T. N. Naik, Deputy Director
3. Division of Epidemiology: Dr. D. Sur, Senior Research Officer
4. Division of Parasitology: Dr. P. Das, Deputy Director
5. Division of Clinical Medicine: Dr. D. Dutta, Deputy Director
6. Division of Pathophysiology: Dr. M. K. Chakraborty, Deputy Director
7. Division of Immunology: Dr. T. Biswas, Assistant Director
8. Division of Electron Microscopy: Dr. D. R. Saha, Senior Research Officer

Scientific presentations on 10th September, 2002 of the JICA/NICED Project Final Evaluation Workshop at NICED at 10 AM.

The Chairman of the Final Evaluation Workshop requested all the scientists to make their presentations to highlight their achievements during the project period.

1. Division of Microbiology

1. Cholera outbreak investigations were carried out in 6 places in India between 1998 to 2000.
2. Molecular aspects covered detailed characterization of *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and diarrhoeagenic *Escherichia coli*. RAPD-PCR, ribo typing and PFGE methods were established to perform DNA finger printing. Emergency of pandemic clones of *V. parahaemolyticus*, new sero groups of STEC and fluoroquinolone resistance strains were detected for the first time.
3. NICED will be able to supply diagnostic sera for *V. cholerae* O1 and O139 sero groups to different laboratories and hospitals in this country. Anti sera production of *V. cholerae* non-O1, non-O139 is under progress.
4. Domestic training programme on "Molecular epidemiology of diarrhoeal diseases with special reference to cholera" was conducted 3 times between 2000 and 2002 at NICED. 35 participants were benefited by this course.

2. Division of Virology

The above project was started in the month of February 1998 and Dr. T.N. Naik, Deputy Director (Senior Grade) and Head, Division of Virology was deputed to Sapporo University School of Medicine, Sapporo, Japan in the month of July, 1998 as JICA Fellow for training on molecular virology of human rotaviruses and Caliciviruses for a period of 8 months. On his return in April, 1999 he initiated molecular characterization of human group B rotaviruses, human group A rotaviruses and human Caliciviruses at NICED. Human group B rotaviruses were detected in the division of Virology in the year 1997-98 (Krishnan et al. 1999, The Lancet).

The primers were designed from the consensus sequences for amplification of various genes of human group B rotaviruses for the first time in the world (Sen et. Al. 2000, J.Clinical virology) and other investigators all over the world are using the same. Further molecular characterization of strain revealed that truncation of NSP2 and NSP3 of ADRV strain of China resulted in a large scale outbreak of epidemic affecting > 1 million people in China in 1982 (Sen et. al. 2000, The Lancet). The intact NSP2 and NSP3 of CAL (Calcutta) is a wild strain. A detailed molecular characterization revealed a number of new characteristics, which was not known earlier (Kobayashi et. Al.2001, J. Medical Virology).

Molecular characterization of human group A rotaviruses revealed prevalence of a number of rare strains from India (Das et. Al. 2002, J. Clinical Microbiology) and detection of 3 G12 strains and one P {19} strains in Calcutta (Das et. al. manuscript communicated) and also

evidence of association re-assortants of human and Porcine strains in outbreak of infantile diarrhoea in Manipur, India (Vici et al. manuscript communicated).

Human Caliciviruses have been detected in Eastern India for the first time by RT-PCR.

Dr. T. Krishnan, Senior Research Officer was deputed to Department of Pediatrics, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo for a period of 10 months in 2000-2001, where she learned molecular virology of human Caliciviruses and human Astroviruses. On her return she is detecting human Astroviruses from diarrhoeic cases for its molecular analysis.

Manpower training and equipment by JICA has helped the scientists of the Division of Virology raise the standard of research at NICED, Kolkata as evidenced by high standard of publication in high impact International Journals.

3. Division of Epidemiology

Impact of Zinc supplementation on incidence of diarrhoea and growth pattern among Low Birth Weight infants of an Urban Slum

In a randomized double blind placebo controlled community based trial conducted in eastern Kolkata, a birth cohort of 100 LBW infants, were randomly allocated into either of two groups i.e., intervention group (5mg elemental zinc daily) or placebo group. The study indicates that, zinc supplementation had a significant protective effect on the incidence of diarrhoea among the low birth weight babies. A significant gain in weight and height, of the zinc-supplemented children was also observed at the end of one completed year of age.

Role of zinc supplementation in reducing diarrhoeal morbidity among rural children:

It was a randomised double blind community based intervention study, in which 280 rural children between 6 – 41 months were administered either 10 mg daily zinc or 50 mg weekly zinc or a placebo for 16 weeks. The study showed that zinc supplementation is effective in reducing diarrhoeal morbidity when administered in either daily or weekly doses.

4. Division of Parasitology

Molecular diagnosis of enteric parasites

- The PCR based diagnostic system using primers designed from sequences of collagenase gene of *E. histolytica* showed ability to differentiate *E. histolytica* to *E. dispar*.
- The nested PCR targeting Intergenic Spacer Region of the rRNA gene of *G. lamblia* was found highly sensitive and specific in detecting *G. lamblia* from other enteric pathogens.

•The nested PCR targeting SS RNA showed better diagnostic approach than microscopy for detection of *Cryptosporidium*. In RFLP, *Vsp1* enzyme was found useful in differentiating human and bovine *Cryptosporidium* genotype.

5. Division of Clinical Medicine:

Efficacy and safety of a sucrose based hypoosmolar oral rehydration solution in adults and older children with cholera

Objective:

To evaluate whether a sucrose based hypoosmolar ORS is more absorption efficient in children and adults with cholera compared to WHO ORS which is mildly hyperosmolar

Methodology:

- Male patients aged 10-55 years, suffering from acute watery diarrhoea of less than 24 hours duration with signs of severe dehydration were included in the study.
- Patients were initially rehydrated with Intravenous Ringer's Lactate solution
- Then randomly assigned to receive one of the two Oral Rehydration Solutions according to a random number table.
- Oral antibiotic (doxycycline 300 mg) was administered.
- Body weight and serum electrolyte were measured on admission, at 24 hours and on discharge
- Stool was sent for culture.
- Intake of ORS, total stool output and duration of diarrhoea were recorded.

Results:

- A total of 65 male patients were evaluated of which 50 patients were positive for *V.cholerae*.
- Out of these 50 *V.cholerae* positive cases, 26 cases received sucrose based ORS and 24 cases received WHO ORS.
- Duration of diarrhoea, stool output and ORS requirement were significantly less($p<0.05$) among patients who received sucrose based ORS than the patients who received WHO-ORS.
- No case of hyponatraemia was observed in the present study.
- Out of 26 cases in the study group, a total number of cases infected with *V.cholerae* O1 was 17, with *V.cholerae* O139 was 5 and *V.cholerae* non O1 non O139 was 4. Out of 24 cases in the control group (WHO ORS) a total number of patients infected with *V.cholerae* O1 was 13, *V.cholerae* O139 was 8 and with *V.cholerae* non O1 non O139 was 3.

Conclusion:

Sucrose based hypoosmolar ORS can be used as an alternative to standard WHO ORS in treatment of cholera in adults and older children.

Impact Of Supplementation of Zinc,Zinc and Vitamin A and combination of micronutrients with vitamins on Acute Watery diarrhoea in mild to moderately malnourished children

Objectives:

To evaluate the impact of supplementation of zinc, vitamin A and combination of micronutrients in malnourished children with acute Watery diarrhoea with respect to :

- > Duration of diarrhoea
- > Stool output
- > Frequency of diarrhoea
- > Consumption of rehydration fluid
- > Nutritional recovery

Study Design:

Double-blind, randomised, placebo-controlled , hospital-based clinical trial

Methodology:

- > Male children aged between 6-23 months suffering from acute watery diarrhoea of less than 3 days duration (with some dehydration) and nutritional status of <75% of Harvard standard of weight for age were included in the study
- > Patients were randomised according to a random number table to allocate the specific numbered bottle of syrup supplementation or only syrup (placebo)
- > All the patients received standard ORS for correction of initial dehydration, and for maintenance of hydration
- > Breast-feeding was continued .
- > Older children received normal hospital diet

Patients received any one of the following:

- 1) 20 mg of elemental zinc(2RDA) and a single oral dose of placebo vitamin A.
- 2) 20 mg of elemental zinc (2RDA) and a single dose of vitamin A
- 3) Micronutrient combination (2RDA of all micronutrients: zinc 20 mg, iron 10 mg, copper 2 mg, selenium 40 micrograms, vitamin B12 1.4 micrograms and folate-100 micrograms) and single oral dose of Vitamin A
- 4) Only Placebo syrup and single dose of Placebo Vitamin A

>The syrup was given daily in two divided dose for a period of 14 days even after cessation of diarrhea and discharge from the hospital

Follow up:

- Until recovery
- Or up to 5 days after hospitalization if they do not fulfill the criteria of recovery within this time period
- Nutritional assessment on day 15 and day 30 of hospitalization will be done for measurement of:
 - >weight
 - >length
 - >Mid-arm circumference

Results:

- 41 children received Zinc syrup and placebo vitamin A
- 44 children received Zinc syrup and vitamin A
- 39 children received syrup of micronutrients and vitamin A
- 43 children received Placebo of micronutrients and Placebo of vitamin A

All four groups were comparable with regard to various initial Characteristics

- > On comparison of the outcome variables of the four groups it was observed that the outcome variables of Zinc and Placebo Vitamin A group, zinc and vitamin A group and micronutrient combination with Vitamin A Group were statistically significantly lesser than the placebo group.
- > There was no statistically significant difference among the three Supplemented groups.
- Only zinc supplementation may be recommended as an adjunct to ORS for its

beneficial effects in acute watery diarrhoea in malnourished children.

6. Division of Pathophysiology

In the Pathophysiology division several studies are being carried out such as Mechanism of action of heat stable toxin secreted by *Escherichia coli* and non O1 *Vibrio cholerae*, enterotoxicity of *V. cholerae* non-O1 non-O139, development of vaccine against shigellosis. It is demonstrated for the first time that a human colonic cell line COLO-205 may be used as a model cell line system to study the mechanism of action of STa. In COLO-205 STa binds to its receptor and stimulates not only guanylate cyclase but also causes IP3 mediated intracellular calcium mobilization, enhanced calcium causes translocation of the enzyme protein kinase C from cytoplasm to membrane and phosphorylates different membrane proteins. Another study revealed that in indepth mechanism of action NAG ST differs from that of *E. coli* ST, initial rise of IP3 mediated calcium causes further influx of calcium from

extracellular environment. Partially purified toxin of *V. cholerae* non 01 non 0139 showed significant increase in short circuit current and potential difference compared to non toxigenic DH5a in Ussing chamber. In a study on *Shigella* it has been found that oral administration of heat killed *Shigella flexneri* 2a caused 100% protection in

7. Division of Immunology

IMMUNOREGULATORY PROPERTIES OF PORIN OF SHIGELLA

Porin is the major outer membrane protein with pore-forming ability of *Shigella dysenteriae* type 1. We purified the 130,000 native protein and found it to be strongly immunogenic, antigenically related within species and surface-exposed. It proliferated murine splenocytes and released IL-1 and NO from macrophages. In order to study it as a potential vaccine, flow cytometric analysis showed that porin strongly expressed CD80 on murine macrophages.

8. Division of Electron Microscopy

Dr.D. R. Saha went to Okayama Prefectural University, Japan in the year 2001 from 24th May to 22nd November under JICA NICED collaborative programme. There she had the opportunity to work with Prof. M. Mori in the Pathology Department & learnt few techniques of Immunohistochemistry. Before her visit to Japan she was working with a project where she was trying to correlate histology with genotypes of *Helicobacter pylori* isolated from cases of peptic ulcer, nonulcer dyspepsia, gastric carcinoma & lymphoma. At present she is using **Gimenez stain**, a rapid cost effective stain for identification of *H pylori* (learnt from Japan). **Immunostains** are being used in situations where the organisms are scanty and modified Giemsa stain and Gimenez stain fails to detect the bacteria. The patients suffering from gastritis, peptic ulcer and gastric malignancies attending in the Gastroenterology Department of the Institute of Post graduate Medical education & Research, Kolkata which are in our series, are being evaluated for their association with *H pylori* using the above techniques.

JICA/NICED プロジェクト報告日本語訳 (終了時評価資料)

プロジェクト名：新興下痢症対策

プロジェクト対象地域：カルカッタ (インド国)

対象グループ：対象地域における生物一般

PDM 作成日時：1997年11月

要約

1. 上位目標：下痢症疾患の予防と治療法の改善
2. プロジェクト目標：国立コレラ、腸管感染症研究所 (NICED) に置いて新興下痢症の対策技術が開発され、確立する。

以下の技術が NICED の種々の部署で確立された。

2. 1：コレラの分子疫学

この研究で用いられた種々の技術は以下の通りである。

ア) RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA-PCR)

イ) リボタイピング

ウ) PFGE (pulse-field gel electrophoresis)

2. 2：腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* O3:K6) の世界流行株の検出

ア) Group-specific PCR

イ) tdh 耐熱性溶血菌遺伝子の検出

ウ) ORF-8 (O3:K6 株に特異的に見いだされたフィラメントス、ファージ中に存在) の検出

上記の手法を利用して2種類の新血清型 (O4:K68、O1:KUT) を世界流行株として検出した。

これらの株はコルカタだけでなく日本を初め複数の国々でも新興感染症菌として認められた。

2. 3：下痢原性大腸菌 (DEC)

人に下痢をもたらす大腸菌株は病原性、疫学面、疾病との関連においても別個の異なったグループに属する。このプロジェクトを通じて技術移転された PCR 法にもとづく DEC 分析法がはじめて NICED で行われている調査に試され、以下の大腸菌の検出が可能となった。

ア) 毒素原性大腸菌 (ETEC)

イ) 腸管病原性大腸菌 (EPEC)

ウ) 腸管組織侵入性大腸菌 (EIEC)

エ) 腸管出血性大腸菌 (EHEC)

オ) 腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC)

2. 4：志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) の分子学的特性の分析

STEC は人の重要な下痢症病原体としてますます認識されてきている。一般に多様な病原因子が STEC の病原性に寄与している。 eae, stx などの染色体上の病原遺伝子や KatP, hlyA, etpD, espP などの STEC のプラスミド上の遺伝子が PCR 法で同定された。

2. 5 : 腸管病原体の薬剤耐性

従来の感受性テストにより頻用抗生物質の腸管病原体の薬剤耐性が下痢症入院例からの分離株でモニターされている。

2. 6 : ロタウイルス検出の為の RT-PCR 法 Dr. Naik

コルカタにおけるロタウイルスによる成人下痢症の発生は新しい現象である。1998年、コルカタにおけるB群ロタウイルスの出現がRT-PCR法を用いて初めて検出された。RT-PCR法によって8この遺伝子断片を増幅することによって、中国での何千人もの(注:1982年、3万人以上)成人集団発生以来、約20年後近くたつてコルカタで成人下痢症起因B群ロタウイルスが出現したことが明らかになった。

2. 7 : 下痢症集団発生にともなう腸管病原体の分子学的型判定

下痢症集団発生例からの菌株分離にはPAPD-PCR、リボタイピング、PFGEなどの種々の分子学的型判定法が必要である。これらの方法を用いてクローンのばらつきや汚染の程度が判定できる。

2. 8 : PCR法によるジアルディア旋毛虫症の鑑別診断

PCR法を用いて糞便からのジアルディア、ランブリアの検出を現在、日常的に行っている。

2. 9 : 赤痢アメーバ原虫のコラーゲン分解酵素の研究

このユニークな研究にはいくつかの移転技術が使用されている。

ア) 電子顕微鏡スキャン法

イ) 電顕上で純化濃密顆粒の抗体の産生

ウ) コラーゲン分解酵素をコードした遺伝子の増幅

エ) 赤痢アメーバの異なって発現したmRNAの分離

2. 10 : Non-O1型コレラ菌産生の耐熱性エンテロトキシン活性機構の研究

Non-O1型コレラ菌は人で重症の胃腸炎を起こし、臨床的には通常のコレラと区別できない。このグループの産生する耐熱性エンテロトキシンの役割を決定するために蛍光法により fura-2 fluorescence のクエンチング(消光計測)が行われた。

3. 研究成果

3. 1 分子生物学的レベルでの腸管病原体の分離と同定

3. 1. 1 : コレラの分子疫学

O139型コレラ発生前後に分離されたO1型コレラのPFGE(前述)がO1型コレラ菌との微妙な違いの手がかりを与えてくれた。O1 エルトール生物型の新クローンは明らかに従来のコルカタにO139型コレラが出現する前に優勢であったO1 エルトール血清型とも現在世界で流行中である4つのO1 エルトール生物型とも異なっている。rRNA 遺伝子とCTX からなる遺伝子のRFLP(restriction fragment length polymorphism)はO139型コレラ以降に出現したO1型コレラはそれ以前に優勢であ

った O1 型コレラと異なることを示している。 PFGE によって 1992 年 1 月以前のものと比較して 1994 年の O1 エルトール型コレラの染色体の再構成を明らかにすることができた。

この分子疫学的研究はコレラ O1 型新クローンがインドの他の流行地やギニアなどの西アフリカ諸国にすでに広がっており、1994 年から 10 月に始まり 96 年まで続いた流行の原因菌であった事を明らかにした。

約 3 年後の 1996 年 8 月に出現した O139 型コレラの表現型分析では 1996 年のコレラ株が 1992-93 年の菌株と同一であることが判明した。 分子疫学的研究では 1996 年 8 月に再出現した O139 型コレラ株は 1992 年と 93 年に分離されたコレラ株とリボタイピングでは区別はできないがその構造と CTX 遺伝子部分に特有の変化を認めた。 CTX 遺伝子部分に 3 連の複製が存在しており、加えて CTX のコアに連続する RSI 部分が保存的 BglI 部分を失い、HindIII と EcoRI 部分を獲得していることを意味している。 最近の DNA シークエンス分析では O139 型コレラのコルカタ再出現株ではエルトール型 CTX プロファージが特に新しいファージの免疫部分を持っているので従来のファージと異なっているのと同様に特有の O139 型 CTX ファージを保持しているのが明らかになってきた。

コレラ様の下痢臨床症例から分離された Non-O1、Non-O139 コレラ菌株ではリボタイピング、種々の遺伝子の PFLP 分析、かなり同一に近い制限パターンと PFGE 様相の特定の血清型に属する菌株の PFGE 間には緊密な相互関係がある事が明らかになった。 この研究からは毒素原性の O1、O139 型コレラとはかなり異なった機構により下痢を生ずるコレラが存在しこれらのグループには腸管病原性コレラ (EPEV) の命名を提唱した。

3. 1. 2 : 腸炎ビブリオの世界流行株の分子疫学

腸炎ビブリオの最近の動向は 3 大血清型、O3 : K6, O4 : K68, O1 : KUT と年代順に流行の可能性と世界流行をおこした原因から分類されている。

濃厚なモニタリングがこの特別の血清型の急激な上昇を研究するためになされており、それらは従来は胃腸炎の散発例にしか関連がなかった。 1995 年以前に分離された O3 : K6 株 (以下古 O3 株と呼ぶ) と 1995 年以降に分離された O3 : K6 株 (以下新 O3 株と呼ぶ) が toxRS の核酸シークエンス (配列) の差異により分析され 1364 塩基の toxRS の 7 塩基が一定して変化していることが明らかとなった。 7 塩基対のうち 2 塩基が、651 塩基対のアンプリコンをつくる group specific-PCR (GS-PCR) を開発するために利用され、新旧の O3 株を分別するのを可能にした。 GS-PCR 法を用いて非 O3 株を検査することにより O4 型、O1 型に属する最近の分離株の toxRS シークエンスが新 O3 分離株と同一であることが発見された。

各国で分離された O3 新株と O4, O1 株の PFGE で 3 つの血清型が非常によく

似た RFLP パターンを示すことがわかった。この 3 つの世界流行株間の小さな違いは非世界流行株との違いに比べると非常に小さいと考えられる。腸炎ビブリオ世界流行株の PFGE パターンは種々の血清型を含むどんな非世界流行株とも異なっている。

それゆえ、この分子疫学的分析と菌株の年代記から考えて O4, O1 型はすでにある O1 型に起源を持っていたと推論される。分子学的研究では集団流行の原因である 1 つのクローンは異なる菌体表面抗原と夾膜抗原を持っていることを示している。

3. 1. 3 : アーメダバードで分離された ETEC 株の分子学的型分類

2000 年の 1 月グジャラート州のアーメダバードで 800 人以上に関連する下痢の集団発生が起こった。コルカタの NICED に送られた大腸菌株から種々の病原遺伝子がみつかった。菌株の 79.2% に ETEC に特異的な *elt* 遺伝子が見つかった。分子学レベルでの性状を明らかにするために代表的な ETEC 株が PFGE で検査された。O1 に属する 5 つの代表的菌株のうち E14, AV185 が同一のパターンを示し、残りの 3 つは同じ血清型に属したにも関わらず異なったパターンを示した。大腸菌 O146 の 2 つの PFGE はお互いに異なったパターンを示した。血清型不明の大腸菌の PFGE もまた O1, O146 とは異なったパターンを示した。

3. 1. 4 : Non-O157 志賀毒素産生性大腸菌の病原性決定因子の遺伝子プロファイル

現在の研究では 30 菌株が PCR により *stx* が陽性だった。12 臨床例のうち 7 例が *stx1* 陽性、2 例が *stx2* 陽性、3 例が *stx1, stx2* 共に陽性だった。牛の便から分離した 14 例のうち 6 例が *stx1* 陽性、3 例が *stx2* 陽性、5 例が *stx1, stx2* 共に陽性だった。生の牛肉から分離した 4 例のうち 1 例は *stx1* のみ、他の 3 例は *stx1, stx2* 共に陽性だった。EPEC の場合はその付着、定着能は Locus of Enterocyte Effacement (LEE) 領域と呼ばれる病原性遺伝子島 (PAI) に存在する 41 個の遺伝子にコードされている。STEC の病原性は LEE と特に *eae* の存在と関連している。我々は EAE1, 2 のプライマーを使って PCR を行った。863 塩基対の PCR 産物は *eae* の存在を示唆する 4 つの菌株 (P33-2-26, AK-16, AK38, AK40) から証明された。しかし、*eae* 陰性株の中には PCR で分析されると予想外のフラグメントの大きさを呈したのもあった。この研究で分離された STEC に見られた *eae* 遺伝子とは異なった対立遺伝子が存在しているのかもしれないがこれは現在調査中である。

E-hly_{etpD}, katP, espP はプラスミドにコードされた遺伝子である。溶血毒素プライマー hlyA1, hlyA44 をつかった PCR で 30 の STEC の分離株のうち 12 が E-hly シークエンスを含んでいることを証明された。しかし、PCR では陰性にもかかわらず AK-1 は hly-A とハイブリダイズした。残りの菌株では陰性であった。しかし、P33-2-26 と AK38 は D1 と D13R のプライマーをつかい 1062 塩基対の PCR 産物を生成しこれは *etpD* 遺伝子塊の存在を示唆した。コロニーハイブリダイゼーション

と同じくプライマーwkatB,wkatFをつかったPCRで証明されたように7つの菌株ではkatP遺伝子塊を保持していた。espPシーケンスに補足的なプローブで分析したときには11の菌株でespPが検出されたのに対してPCRがespPで行われたときは特異的アンプリコンを産生した。

この様に病原因子の分析の結果、現在採取された菌株のなかにはO157には属さず牛糞から分離したAK38が、人間から分離したO157(AK34)が何の病原遺伝子要素ももたなかったのに対し、全ての潜在的な毒素遺伝子を持っていたことが明らかになった。

3. 1. 5 : コルカタの腸チフス例で見られた Vi 抗原陰性腸チフス菌

1999年中にコルカタのBC.Roy 記念 (BCR) 小児病院に入院し、臨床的に腸チフスが疑われた患者50例から血清サンプルが入手された。9例から腸チフス菌が検出された。商業ベースの抗血清から凝集法を用いて Vi 抗原を調べたところ5例 (55.6%) が陽性で4例が陰性だった。陰性例ではフェージ型判別法で全てに型判定ができなかった。Vi 抗原陰性菌株から Viab をコードした遺伝子シーケンスを検出するためにPCRを行った。1990-91年にかけて分離された Vi 抗原陰性の70例もこの研究の中に含まれた。興味深いことには Vi 抗血清で凝集しなかった74例中72例の腸チフス菌株が Vi 抗原をコードした遺伝子を保持していることがわかった。今のフェージ型別で判定できない Vi 抗原陰性の腸チフス菌が世界的に出現している。この結果からは Viab PCR によって Vi 凝集法陰性でかつ臨床的には腸チフスと診断される例の診断を強化することができるだろう。Vi 特異的抗血清で凝集しない腸チフス菌の急増は Vi 抗原の発現をマスクしている菌株の遺伝子変化の存在を示唆するだろう。これが腸チフスワクチンへの糸口になるかもしれない。

3. 1. 6 : A 群ロタウイルスの遺伝子型

VP7とVP4の性状によりG血清型とP血清型を決めるために充分量のA群ロタウイルス陽性例が集められた。サンプルの遺伝子型はRT-PCRとmultiplexPCRにより検査された。G1が39.7%で最多、G2は23%、G4が12%と続き混合型が7.4%であった。しかし、G3,G9は単独では検出されず、G1-4,G6,G8-12のG血清型に特異的なプライマーが使用されたが29例は型判定不能であった。P型判定は4,6,8,9特異的プライマーを用いたが分析の結果、P8が36%でP4:25.7%、P6:5.5%であった。19%は種々のP血清型を含むA群ロタウイルスの多重感染であり、12%は今回の検査では型判定不能であった。G1P8,G2P4が最も多い組み合わせだった。興味深いことにはあまりみられないG1P4(4%),G2P8(2.5%),G2P6(0.6%),G4P4(2.5%),G4P6(1.25%)がこの研究で検出された。

他の知見としてはVP6内殻タンパクのERISA法で不活性型の菌株が9.5%分離

されたことである。これらのサンプルではポリアクリルアミドゲルの電気泳動でロタ A ビールズに特異的な RNA 泳動パターンは呈するもののどのグループ、サブグループにも多クローン性の抗血清にも何の活性も示さなかった。異なる構造タンパク (VP4,6,7) も非構造タンパク (NSP1,4,5) もロタビールズ A に特異的なプライマーで増幅された。我々は PCR2.1 の全ての PCR 産物をクローンすることに成功したし、そのいくつかの遺伝子は解析された。核酸のシーケンスの系統発生的分析 (CLUSTAL X プログラム) では VP6 が SGI 菌株 US1205(G9P2,6) と最大のホモロジーをみせて、非常に興味深かった。CLUSTAL X 配列でこの2つの菌株間で7つのアミノ酸しか違いがなかったことは変化したアミノ酸は VP6 タンパクの構造形成と、グループ、サブグループ間の特異的な単と多クローン性の抗体を連結するに当たって重要な役割を果たしていたのかもしれない。RNA の2次構造とこれら2菌株間の疎水性のプロットの違いも又 DNASIS ソフトウェアを用いることにより明らかになった。

3. 1. 7 : クリプトスポリジウム原虫の分子学的解析

BCR において鏡検でスクリーニングされた 1508 例の検便が集められた。Cryptosporidium parvum (Cp) が 77 例 (5.1%) に検出された。Cp 単独で見つかったのは 3.1% だった。これらの検体はもう一度 PCR, nested PCR で診断が確定された。続いて SspI, VspI 制限酵素を用いて種類の同定と遺伝子分析がなされた。PCR の1番目のバンドは 1325 塩基対、2番目のバンドは 815-25 の所に検出された。2番目のバンドの産物を制限酵素 Ssp を用いて消化し、RFLP で分析したところ 106, 247, 444 塩基対の所に異なる3つのバンドを検出した。これは明らかに Cp を示している。VspI による2番目のバンドの産物は 104, 556 塩基対に異なったバンドを示し、これは人の Cp の遺伝子型分析に有用であることがわかった。最初の遺伝子型判別の結果からインド人の Cp は2個の遺伝子型を持っていることがわかった。シーケンスや他の分析は進行中である。

3. 2 : 新たな治療法の開発

3. 2. 1 : 軽度から中等度低栄養児の急性水様性下痢に対する 1) 鉛、2) 鉛とビタミン A、3) 微量元素とビタミンの混合投与法の検討

これらの研究から従来の経口補液療法 (ORS) に上記の投与法を加味することによって栄養障害児の急性水様性下痢症の脱水の改善に有益であることがわかった。

3. 2. 2 : 成人や年長児のコレラ患者への蔗糖をベースにした低浸透圧 ORS の効果と安全性 : 臨床試験

WHO/UNICEF によって提唱されている ORS は年齢にかかわらず世界的に脱水性下痢症に勧められている。しかしこれによっては下利便の量や下痢の期間を

placebo

短縮することはできない。この研究はブドウ糖の代わりに適度な蔗糖を含む低浸透圧 ORS の有用性を検討するために行われた。この研究の対象となった60名患者のうちには低Na血症を呈するものはなかった。この研究は進行中である。

3. 2. 3 : 小児のコレラ患者に対するエリスロマイシンとアジスロマイシンの有用性の比較検討

3から9歳までの水様性下痢症患者80名がこの研究に参加した。全ての患者はプラセボに加えて(?)エリスロマイシンかアジスロマイシンの投与を受けている。80名のうち56名がコレラ菌陽性である。56名のうち29例がアジスロマイシン、27例がエリスロマイシンの投与を受けた。全体としては治療に反応してコレラ陽性患者のうちアジスロマイシンの患者の方がORS摂取量、便量、下痢の持続期間は明らかに短縮した。この結果から小児のコレラの治療にはエリスロマイシンに変えてアジスロマイシンも使用できることが示された。

3. 3 : 薬剤耐性腸管病原体のモニタリング

シプロフロキサシンとノルフロキサシンは第2世代のフルオロキノロン系の広域抗生剤でありコレラ O1, O139 に対しても優れた効果を持っている。臨床研究では成人や小児のコレラの治療においてもコレラの薬剤は有効性を示してきた。コルカタでは Non-O1, Non-O139 のコレラ臨床例に対するフルオロキノロン系薬剤耐性の著名な増加が1996年に報告された。1994年までに分離されたコレラ O1 菌は全てシプロキサシン感受性であった。1995年からシプロキサシンとノルフロキサシン耐性の O1 コレラ菌株が著名に増えて1999年には38.8%、2000年には25%と連続して最高の耐性率を記録した。Muller Hinton アガールでのE-testではシプロキサシン耐性コレラ菌に対する最小菌阻止濃度(MIC)は9-32マイクログラム/mlでありノルフロキサシン耐性例のMICは192-256マイクログラム/mlだった。コレラ O1 型のナリジクス酸への耐性発現は1993年以前は10%以下と低率でありその後1999年には100%とピークを示した。多分、臨床の場ではフルオロキノロン系薬剤が不均衡に大量に使用され、それと同時に投与されたナリジクス酸によってもたらされた選択的圧力に直接的に反応してシプロキサシン耐性が出現したのかもしれない。

最近の報告では興味深いことに O139 菌株でのキノロン系の耐性発現は低率である。ナリジクス酸耐性のデータから導かれる一つの可能性のある説明はコレラ O139 菌株の出現が低頻度であること、従ってフルオロキノロン耐性に必要な2重突然変異の頻度が O139 の耐性データを反映して低くなるということである。コレラ菌に対するフルオロキノロン耐性の出現は明らかにこれらの薬剤の治療を複雑にしており、この傾向に対して注意が払われなければならない。幸運なことにコレラ O1, O139 共にテトラシクリンに対しては感受性があり、

コルカタの感染症病院に置いてはコレラ治療に対する効果的な薬剤である。

3. 4 : 菌株の委託用保存と診断血清の供給

NICEDではコルカタのID病院とBCR小児病院に入院した急性下痢症の重要な菌株が全て保存されている。加えて、この研究所(NICED)では腸管細菌の多くの菌株が分離解析のために送られてくる。これらもまた全て菌株保存施設に保管されている。下痢症起因の全ての大腸菌、ビブリオの5種類、好気性菌の4種類、赤痢菌4種類、サルモネラ5種類、肺炎桿菌は微生物学部門に保管されている。赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウムの様な原虫類の培養も継続されている。

NICEDはコレラO1(小川稲葉型)、O139型の単クローン性抗体も生成した。これらの抗体はコレラの分離の要望がある研究機関に提供されている。

3. 5 : 人や水域における下痢症病原体のモニタリング

腸管病原体の調査がコルカタのID病院、BCR小児病院で行われている。ロタウイルス、原虫を含む全ての腸管病原体を有する急性下痢症の便検体が全ての年齢にわたり採取されており、NICEDのコンピューター部門で臨床データ、人口統計データと共に組織的に記録されている。

O1とO139以外の他の血清型のコレラの臨床菌株と環境抽出菌株との関連を明らかにするために適合する血清型のコレラ菌との薬剤耐性、病原遺伝子、リボタイプ、DNAフィンガープリンティングが調べられた。この研究の結果、コレラの17の血清型において臨床菌株と環境菌株がマッチしたことがわかった。水環境が疾病に関連する血清型の温床かどうかを決定するべく多種の表現型、遺伝子型の特性検査が利用された。臨床分離株と環境由来株のコレラ菌の薬剤耐性パターンを比較したところ臨床分離株の方が環境由来株に比べて寄り多くの薬剤に耐性であり、多剤耐性であった。エルトール型溶血毒素の遺伝子が存在することとこれらのほとんどのケースに見られる調節因子ToxRが存在することをのぞいてはこの研究で分析されたNon-O1、Non-O139の臨床環境株は毒素原性O1,O139型コレラでよく知られた病原性を欠いていた。病原遺伝子、リボタイプ、臨床環境から分離された血清型に一致するDNAフィンガープリンティングの制限フラグメント長の多型性や臨床環境から分離された異なる血清型のいくつかの遺伝子のRFLPやリボタイプが類似しているのにもかかわらずかなりの多様性を示した。このことから類似の血清型が有るにもかかわらず臨床環境から分離された菌株は遺伝子的にはヘテロジナスで異なった系統であった。

3. 6 : インドの各病院のコレラネットワーク構築

この構想はまだ始まったばかりの段階である。NICEDはチェンナイ、ナグプール、アーメダバード、シェバグラム、プネ、ヤバトマール、ハイデラバード、ブバネシュワールなどの代表的なコレラ流行地の病院と持続的に連絡を取ってい

る。 コレラの発生率やコレラの変遷が必要なときに逐一報告され出版される。

4 : コレラと下痢症の集団発生調査

4. 1 : オリッサ州のスーパーサイクロン後の下痢集団発生

インドの東に位置するオリッサ州では1999年に未曾有のスーパーサイクロンに見舞われ、その襲来は48時間以上続いた。 11月から12月にかけて公式には97000人の下痢症が発生し81人がなくなった。 集団発生はサイクロンのすぐ後に付随して本質的には散発的だったが、患者から分離したコレラ菌の分子疫学的解析と同時に集団発生の原因となる病原体の原因を確かめるべく調査団が赴いた。 107の肛門スワブ検査で72.3%がコレラ O1 小川型が O139 型が7.2%、EAggEC が1.2%、細菌性赤痢(*S.flexneri*) 6型が1.2%分離された。 RAPD—PCR とリボタイピングでのコレラ菌の代表的菌株が検査された。 O1、O139型両者ともにリボタイプ R3 を示し、コルカタの RAPD と同一のパターンを示した。 この調査で毒素原性のコレラ菌の流行は散発性集団発生であるとわかった。 飲料水不足と貧弱な下水設備がこの下痢症集団発生の原因であった。 時期を得た報告と的を得た対策の実行がオリッサ州沿岸の流行の歯止めとなった(?)。

4. 2 : コタヤム集団発生

最初のコレラ患者は2000年1月2日に発生した。 コタヤム地域の種々の病院で1月6—11日をピークに患者は増え続けた。 N I C E D の調査チームは1月20—25日にかけてチャンガナチェリ、クリチ、コタヤム、クマラコムというコレラ流行地域を訪れた。 コタヤム医科大学に入院した患者から集められた便のサンプル、プリクジやクリチ地域の池の水、クマラコムの筋肉のサンプル、コタヤムの氷冷した魚のサンプルから共通の腸管病原体が見つかった。 21の便のサンプルから3つ、池の水からもコレラ O1 小川型が陽性であった。 ほとんどの魚のサンプルからはコレラ非 O1, 非 O139 型が陽性であることが判明した。 予防策として調査チームはビブリオが分離されたプリクジの池を封鎖することを提案した。 この地域の住民は池の水を家事に使わないように指導された。 加えて、マンガカラから集められた井戸の水も非病原性コレラ菌に高濃度に汚染されており塩素消毒することを提案した。 鯖や鮭や魚の貯蔵用の氷が非病原性のコレラで汚染されていることがわかった。 魚が移送されてくるツチコリンからの魚取引を集団発生が終息するまで中止するよう提案した。 調査チームは将来のコレラ予防の為に流行地域に水道を布設するよう提案した。

4. 3 : アーメダバード集団発生

この調査ではグジャラート州のメトロポリタンの集団発生に3種類の病原体が関わったことに注目した。 2000年の1月1日—17日にかけてアーメダバード

ドの I D 病院、V S 総合病院、L G 病院の 3 病院で 8 0 9 例の急性水様性下痢が報告された。少なくとも下痢症例のために 4 0 の病棟が使用された。これらの病院の背景人口は 8 0 - 9 0 万人である。この集団発生の attack rate は 0. 2 % であった。細菌学的検査が 8 0 9 例のうちの 7 3 4 例に施行された。7 3 4 例のうち 7 2 例がコレラ O1 が陽性、3 1 例が O139 陽性、2 4 例が大腸菌陽性であった。これらの検査は全てコルカタの NICED で行われ、代表的検体がバイアスをさけるために無作為に PCR による病原遺伝子、分子型判定、標準法による抗生剤感受性を検査した。コレラ菌の 1 0 3 検体検査の結果、7 2 例 (7 0 %) が小川型コレラ O1 エルトール生物型、3 1 (3 0 %) が O139 型と判明した。O1 : 1 7 例、O139 : 8 例の 2 5 例全てが multiplex PCR で ctxA と エルトール変異 tcpA 陽性であった。大腸菌の 6 血清型がみつきり、O1 型が 4 1. 6 %、O146 型が 1 6. 6 % で 1 6. 6 % が型判定不能であった。PCR では大腸菌検体の 1 8 例 (7 5 %) に O1 型に属する elt 遺伝子が 9 例 (5 0 %) 潜んでいた。全ての大腸菌検体には est, stx1, stx 2 は検出されず、EAgg PCR でも陰性であった。この調査では 1 2 の標準流行 CFA s はどの ETEC からも見つからなかった。

2 3 例の O1 コレラと 9 例の O139 コレラの抗生物質感受性検査ではすべての検体でアンピシリン、フラゾリドン、ナリジクス酸耐性であった。加えて O139 型が以下の薬剤に全て感受性があったのに対し、O1 型コレラではコトリモキサゾール、ストレプトマイシン耐性であり、クロラムフェニコールにも 2 1. 7 % 耐性であった。大腸菌の大半ではキノロン系を含む多種の抗生剤に高い耐性を持っていた。8 例のコレラ O1 小川型の代表的検体のリボタイピングでは 7 例が以前から報告のある RIII 型であったのに、AHO94 の 1 例は 5. 6 k b に付加的バンドが存在し、従来の RIII タイプとは少し異なっていた。O139 型の代表的リボタイピング 5 検体ではコルカタで流行しているリボタイプと同一とみられる BII タイプであった。

コレラ O1 小川型の 6 検体の PFGE ではコルカタの新クローンの H パターンと同一のパターンを示した。O139 型 3 検体の PFGE 分析では 1 9 9 2 年から 1 9 9 7 年までにコルカタで見つかった O139 型とは異なったパターンを示した。PFGE が大腸菌 8 検体に行われた。O1 型に属する 5 検体のうち 2 検体 E 1 4, A V 1 8 5 は同一パターンを示したのに対し、3 例は同じ血清型にもかかわらずお互いに異なるパターンを示した。

アーマダバードの急性下痢症の集団発生はコレラと ETEC の 2 大腸管病原体が原因であったという点で希なものであった。我々の知るところではこの様なケースはインドにおける最初の報告である。

4. 4 : コルカタのコレラ集団発生

2000年にコルカタで2つのコレラ集団発生が調査された。4月4日から18日まで71例のコレラがアカラファタック地区で報告され、attack rateは28.9%であった。22例の水サンプルの内10検体と5例の便サンプルから2検体コレラ O1 小川型が検出された。

同年の10月4日から10日までパツリ地区でもう一つのコレラ集団発生が調査された。710例のコレラが報告され、attack rateは7.1%であった。便と水サンプルの検査で O139 型が原因であると判明した。飲料水、貯蔵水が高度に汚染されており、これが感染源であろうと推測された。この結果が保健大臣に報告され、集団発生終息のために適切な方策が講じられた。

5. 発見された新病原体／新血清型／新遺伝子型

a)CTX 遺伝子上がタンデムに3コピー存在する O139 型コレラ

この CTX フェージは最初の分離地であるコルカタを記念して Cal フェージと名付けられた

b)O139 型コレラが出現して以来初めての新しいリボタイプの O1 コレラ菌株

c)O3:K6,O4:K68,O1:K25,O1K (?) のビブリオ. パラヘモリティカ流行例

d) O96:H19,ONT:NM,ONT:H14,ONT:H18 に属する志賀毒素産生大腸菌 (STEC)

これらの血清型はマイクロバイオネットの非 O157 には記載されていない

JICA トレーニングプログラムの参加者リスト (11名) 略

JICA