ラオス人民民主共和国
マラリア及び重要寄生虫症の
流行拡散制御に向けた遺伝疫学による
革新的技術開発研究プロジェクト
中間レビュー調査報告書

平成 29 年 4 月
（2017 年）

独立行政法人国際協力機構
人間開発部

人 間
ＪＲ
17-050

ラオス人民民主共和国
マラリア及び重要寄生虫症の
流行拡散制御に向けた遺伝疫学による
革新的技術開発研究プロジェクト
中間レビュー調査報告書

平成 29 年 4 月
(2017 年)

独立行政法人国際協力機構
人間開発部

目　　次

地　図
写　真
略語表
評価調査結果要約表（和文・英文）

第１章　中間レビューの調査概要…… 1
　１－１　調査団派遣の経緯…… 1
　１－２　中間レビュー調査の目的…… 1
　１－３　中間レビュー調査団のメンバー…… 1
　１－４　プロジェクトの枠組み…… 2

第２章　中間レビュー調査の方法…… 5
　２－１　SATREPS におけるプロジェクトレビューの枠組みについて …… 5
　２－２　レビュー手法…… 5
　２－３　評価５項目…… 5

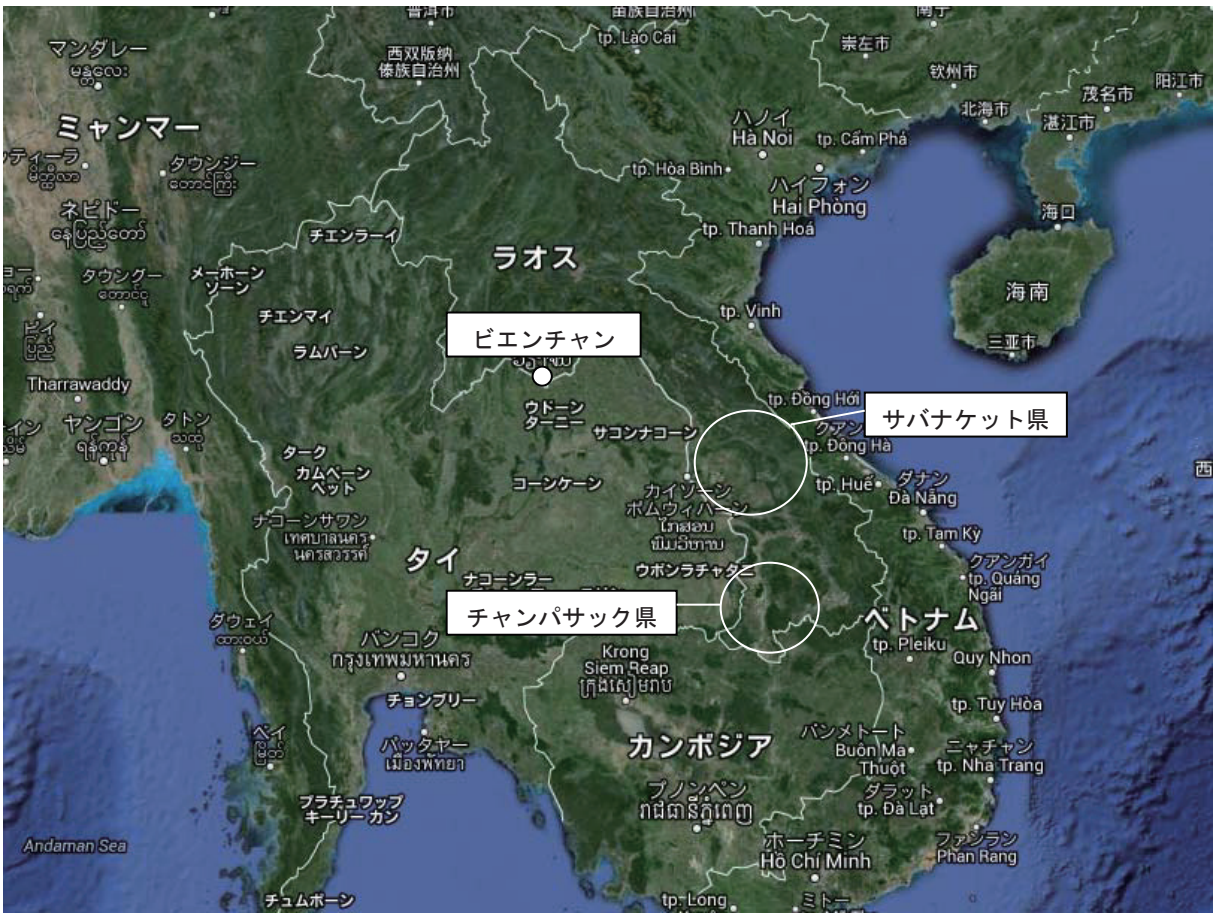
第３章　プロジェクトの実績と実施プロセス…… 7
　３－１　投入…… 7
　３－２　プロジェクトの実績…… 8
　３－３　実施プロセスの検証…… 34

第４章　評価結果…… 36
　４－１　妥当性…… 36
　４－２　有効性…… 38
　４－３　効率性…… 40
　４－４　インパクト…… 43
　４－５　持続性…… 46
　４－６　結論…… 48

第５章　提言と教訓…… 49
　５－１　提言…… 49
　５－２　教訓…… 51

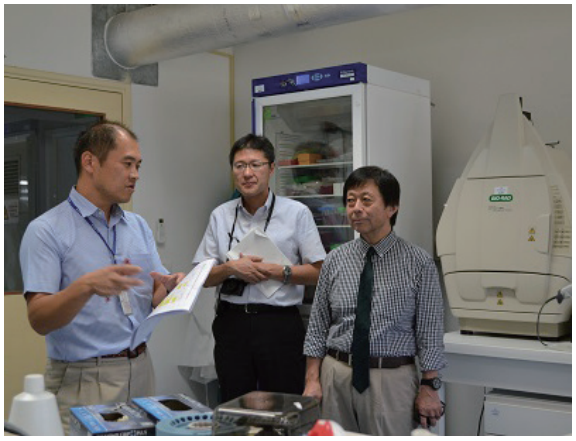
付属資料
　協議議事録（Minutes of Meetings：2016 年 12 月 16 日署名）…… 55

地　　図



https://maps.google.com/maps/ms?ie=UTF8&t=h&oe=UTF8&msa=0&msid=101013044079103269322.00046229aa2425c2821ca

写　　真



調査団によるラボの視察

コーン島調査の様子

パスツール研究所での協議

NIOPH へのヒアリング

サイエンティフィックミーティング

中間レビュー調査結果に関する協議

略　語　表

略　語	正　式　名　称	和　訳
AMED	Japan Agency for Medical Research and Development	国立研究開発法人日本医療研究開発機構
CMPE	Center for Malariology, Parasitology and Entomology	（保健省）マラリア学・寄生虫学・昆虫学センター
DCDC	Department of Communicable Diseases Control	（保健省）伝染性疾患対策局
DHOs	District Health Offices	郡保健局
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
GFATM	Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria	世界エイズ・結核・マラリア対策基金
G6PD	Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase	グルコース－6－リン酸デヒドロゲナーゼ
IHR	International Health Regulation	国際保健規則
IPL	Institut Pasteur du Laos	（保健省）ラオス国立パスツール研究所
IRB	Institutional Review Board	施設内倫理委員会
JCC	Joint Coordinating Committee	合同調整委員会
JICA	Japan International Cooperation Agency	独立行政法人国際協力機構
JST	Japan Science and Technology Agency	国立研究開発法人科学技術振興機構
LAMP	Loop-mediated Isothermal Amplification	ループ媒介等温（核酸）増幅（法）
LLIN	Long-Lasting Insecticide-Treated Nets	長期残留型殺虫剤含有蚊帳
LNHRF	Laos National Health Research Forum	ラオス全国保健研究フォーラム
LOMWRU	Lao-Oxford-Mahosot Hospital Wellcome Trust Research Unit	ラオス−オックスフォード−マホソット病院 ウェルカムトラスト研究ユニット
M/M	Minutes of Meetings	協議議事録
MOH	Ministry of Health	保健省
MOU	Memorandum of Understanding	（共同研究等に係る）覚書
MTA	Material Transfer Agreement	物質移動合意書
NCGM	National Center for Global Health and Medicine	国立研究開発法人国立国際医療研究センター
NIOPH	National Institute of Public Health	国立公衆衛生院
ODA	Official Development Assistance	政府開発援助
OVIs	Objectively Verifiable Indicator(s)	（プロジェクト目標や成果達成度測定のための）指標

PCM	Project Cycle Management	プロジェクト・サイクル・マネジメント
PCR	Polymerase Chain Reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
PDM	Project Design Matrix	プロジェクト・デザイン・マトリックス
PHOs	Provincial Health Offices	県保健局
RDT	Rapid Diagnostic Test	迅速診断テスト
SATREPS	Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development	地球規模課題別対応国際科学技術協力
SMPE	Station of Malariology, Parasitology and Entomology	（県保健局）マラリア学・寄生虫学・昆虫学ステーション
SOP	Standard Operating Procedure	標準操作手順書
SPR	Slide Positivity Rate	顕微鏡陽性率
TMDU	Tokyo Medical and Dental University	東京医科歯科大学
UR	University of the Ryukyus	琉球大学
UT	The University of Tokyo	東京大学
WHO	World Health Organization	世界保健機関

評価調査結果要約表

１．案件の概要		
国名：ラオス人民民主共和国		案件名：マラリア及び重要寄生虫症の流行拡散制御に向けた遺伝疫学による革新的技術開発研究プロジェクト
分野：保健医療		援助形態：技術協力プロジェクト（SATREPS）
所轄部署：人間開発部保健第二グループ保健第四チーム		協力金額：約 3 億 8,000 万円
協力期間	（R/D） 2014 年 5 月 1 日～ 2019 年 4 月 30 日	先方関係機関：保健省マラリア学・寄生虫学・昆虫学センター（CMPE）、ラオス国立パスツール研究所（IPL）
		日本側協力機関：国立国際医療研究センター（NCGM）、東京大学、琉球大学、順天堂大学、東京医科歯科大学
		他の関連協力：特になし

１－１　協力の背景と概要

ラオス人民民主共和国（以下、「ラオス」）では、マラリアや吸虫症（メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症等）をはじめとする重要寄生虫感染症が深刻な社会経済的負荷となっている。効果的な感染対策や薬物耐性発現防止など、ラオス国内だけでなく、地球規模課題対策の観点から国際社会のニーズに対応するためにも、科学的根拠に基づく対策計画の策定をより強化することは喫緊の課題である。係る状況に対応するため、ラオス政府の要請に基づき、2014 年 5 月から 5 年間の予定で「マラリア及び重要寄生虫症の流行拡散制御に向けた遺伝疫学による革新的技術開発研究プロジェクト」（以下、「プロジェクト」）が保健省下の組織であるマラリア学・寄生虫学・昆虫学センター（Center for Malariology, Parasitology and Entomology：CMPE）及びラオス国立パスツール研究所（Institut Pasteur du Laos：IPL）をカウンターパート機関として地球規模課題別対応国際科学技術協力（Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development：SATREPS）の枠組みで実施されている。

今回実施の中間レビュー調査では、ラオス側関係機関と合同で本プロジェクトの目標達成度や成果等を分析するとともに、プロジェクトの残り期間の課題及び今後の方向性について確認し、合同中間レビュー調査報告書に取りまとめ、関係者間で合意することを目的とする。

１－２　協力内容

（1）プロジェクト目標

開発されたマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の遺伝疫学的診断方法に基づく研究成果が疾病対策等の行政サービスに反映される。

（2）成果

1）マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の、より簡便で精度の高い診断法〔ポリメラーゼ連鎖反応（Polymerase Chain Reaction：PCR）法・ループ媒介等温（核酸）増幅（Loop-mediated Isothermal Amplification：LAMP）法等〕が開発・普及される。

2）マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の病原体とベクター（媒介者）の集団としての遺伝子構造の時空間的変化がモニタリングされる。

3）薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズムが分析される。

4）開発された診断方法によるマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症のサーベイランスに基づき、地域の行政機関とともに住民教育が強化され、流行の監視が実施される。
5）ラオスの研究者及び行政官のマラリア・寄生虫感染対策に関する能力が強化される。

（3）投入（評価時点）

日本側

- 専門家派遣：長期専門家 合計 3 名（寄生虫学 1 名、業務調整 延べ 2 名）（57 人月）、短期専門家 延べ 46 名（10 人月）
- 機材供与：DNA シークエンサー、電気泳動ゲル撮影装置、マルチガスインキュベーター、分光光度計、超低温フリーザー、自動電気泳動装置、リアルタイム PCR システムなど（合計 6,733 万 6,067 円）
- 外国人研究員の招へい：延べ 6 名（研究成果の共有や研究計画の協議等）
- 本邦研修：合計 2 名（マラリア診断技術、薬剤感受性試験、遺伝子解析、疫学調査など）
- ローカルコスト負担 約 4,641 万 8,000 円

相手国

- カウンターパート配置：合計 20 名（保健省：9 名、CMPE：2 名、IPL：6 名、NIOPH：3 名）
- 施設及び資機材：IPL における研究スペース及び事務スペース、IPL 及び県 CMPE における既存の研究機器、保健省及び IPL が保有する研究関連情報、データ及び及び標本
- ローカルコスト負担：プロジェクト事務所水道光熱費、コストシェアリングによる機材保守管理等にかかる JICA 負担分以外の IPL 負担分の合計額 約 795 万 2,723 円

２．評価調査団の概要

調査者	団長・総括	金井　要	JICA 人間開発部 技術審議役
	協力企画	藤田　恵里	JICA 人間開発部保健第二グループ保健第四チーム職員
	評価分析	井上　洋一	株式会社日本開発サービス　調査部　主任研究員
	感染症対策研究	北　潔 （オブザーバー）	国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）国際事業部　医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業プログラムオフィサー 長崎大学大学院　熱帯医学・グローバルヘルス研究科研究科長　教授
	計画・評価	石井　克美 （オブザーバー）	AMED 国際事業部国際連携研究課　主幹
調査期間	2016 年 11 月 27 日～ 2016 年 12 月 17 日		評価種類：中間レビュー

３．評価結果の概要

３－１　実績の確認

（1）成果 1

マラリアについては、ラオスにおいて IPL でのマラリア研究のために PCR 法によるマラリア原虫デオキシリボ核酸（Deoxyribonucleic acid：DNA）検出法を開発した。本プロジェクトでは、迅速で操作が簡便、感度の高い栄研化学株式会社が開発した LAMP 法に

よるマラリア原虫 DNA 検出キット「Loopamp™」を同社の協力を得て、ビエンチャンの IPL、CMPE に加え、ルアンパバーン県（北部）、サバナケット県（中部）、チャンパサック県（南部）の県保健局マラリア学・寄生虫学・昆虫学ステーション（Station of Malariology, Parasitology and Entomology：SMPE）へ導入した。上記 3 県はそれぞれの地域を管轄する拠点であり、この 4 箇所でラオス全土をカバーしたと言える。なお、中間レビュー調査時点ではマラリア診断の「補助診断法」として運用が開始されている。しかしながら、新規診断法を臨床診断に適用するには臨床性能を評価するために臨床検体の試験を継続し、同診断法がラオスのマラリア診断の公定法として承認される必要がある。中間レビュー調査以降は同法の臨床性能を評価するための情報を蓄積し、ラオスのマラリア予防・診断ガイドラインの改定までに公定法として認証を受けることを目指している。

メコン住血吸虫症診断のための LAMP 法による DNA 検出法に関しては、2016 年 10 月に従来法である顕微鏡検査より 8 倍高い検出感度が得られ、既にプロジェクトで実施している中間宿主貝や患者の糞便検体の解析に適用されている。本法が保健省等による流行状況把握のための能動的サーベイランスに使用されれば、より正確に流行状況を測定することに貢献すると考えられる。他方、タイ肝吸虫症診断のための LAMP 法による DNA 検出法開発は技術的には完了したものの、基準となる顕微鏡法で得られた検査結果の信頼性が担保できないことから、本法そのものの感受性度と特異度の評価が困難な状況である。

以上のことから、各遺伝子検出法の目的や用途を考慮した場合、ラオスの寄生虫病研究や対策を行う上で必要な遺伝子診断法は順調に開発が進められている。したがって、成果 1 の中間レビュー調査時点での進捗としてはおおむね適切と考えられる。

（2）成果 2

成果 2 に関する成果として、プロジェクトはこれまでに既存のデータ分析から、ラオスで報告されるマラリアのうち熱帯熱マラリアの占める割合が年々減少し、三日熱マラリアの占める割合が増加していることが明らかとなった。さらに、プロジェクトが実施した流行域の住民に対する能動的サーベイランスによって、特に三日熱マラリア原虫の無症候性キャリアが予想以上に多いことが明らかとなった。

マラリアに関しては、中間レビュー調査時点で、PCR 法によるマラリア原虫の種鑑別を行っている段階であり、この作業が終了次第、マイクロサテライトマーカーを用いた eBURST 解析を含む集団遺伝学的手法を用いたマラリア原虫の遺伝子構造の変化を時空間的に解析する予定である。

他方、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症に関しては、それぞれ患者数が少なすぎる、または多すぎるために、集団遺伝学的手法を用いた遺伝子構造の時空間的変化を評価することや、分子疫学的に流行の決定因子や拡散因子の評価を行うことが困難であることが明らかとなった。

総合的に判断すると、中間レビュー調査時点での成果 2 の達成度はおおむね適切と考えられる。

（3）成果 3

クロロキン耐性熱帯熱マラリアがメコン地域に多いことから、ラオスではクロロキンの使用が禁止されている。しかしながら、プロジェクトがクロロキン耐性責任遺伝子 *pfcrt* について解析したところ、クロロキン感受性型（野生型）の熱帯熱マラリア原虫が増加する傾向にあることが確認された（活動 3-1 を参照）。野生型熱帯熱マラリアの増加は、クロロ

キンによる選択圧が減少したことが一因であると推察される。

また、プロジェクトでアルテミシニン耐性に関連する遺伝子 *K13* について解析したところ、サバナケット県では 2010 年では調査した検体すべてにおいて *K13* 遺伝子の変異は観察されなかったが、2015 年に採取された検体からは 3%でアルテミシニン耐性に寄与する遺伝子変異（C580Y）が検出された。このことは、サバナケット県にもともと存在している原虫の *K13* 遺伝子が変異したか、権威を持つ原虫集団が他の地域から流入している可能性を示唆するものである。また、サバナケット県に隣接しているサラワン県ではサバナケット県の 3%に対し有意に高い 63%の検体で *K13* 遺伝子の C580Y 変異が観察された。このことは、サラワン県では既にアルテミシニン耐性に寄与する *K13* 遺伝子の変異の分布が高度となっていることに加え、南部 4 県の中で分布の程度に大きな地域差があることを示唆するものである。

より詳細な薬剤耐性遺伝の発生や拡散メカニズムを検討するために、プロジェクトは上述以外に新しい薬剤耐性マーカーの探索を予定しているが、上述したとおり、中間レビュー調査時点で薬剤耐性の発生や拡散のメカニズムに関する重要な知見を得ていることから、中間レビュー調査時点での成果 3 の達成度は適切であると考えられる。

（4）成果 4

プロジェクトはマラリア流行地域での調査で 11%の無症候性マラリア感染者を発見し、ラオスのマラリア対策を行う上の重要性を示している。この調査では特に森林労働者を含む屋外労働に従事する成人男性に感染者が多いことが示唆されており、プロジェクトでは中間レビュー調査以降、このような手段に対する感染予防に関する社会科学的アプローチについて、保健省や世界保健機関（World Health Organization：WHO）と協力して進めていく予定である。

メコン住血吸虫及びタイ肝吸虫症に関して、どのような手段でメッセージを伝達するかについては、慎重に検討する必要がある。なお、タイ肝吸虫症に関して、プロジェクトではこれまでに非感染者がいる家庭では感染者のいる家庭に比較して、魚をさばいた後のまな板が衛生的に管理されている傾向が観察され、感染を防ぐ要因（ポジティブ・デビエンス：Positive Deviance）である可能性を示唆する調査結果を得ている。中間レビュー調査以降はまな板の魚の付着物中にタイ肝吸虫の存在を証明するための試験を行うとともに、プラジカンテルによる集団駆虫後の非感染状態維持に向けたポジティブ・デビエンスの観点からの介入試験も検討している。

以上のことから、中間レビュー調査までにプロジェクト後半で予定されている対象疾患の予防制御に向けた基礎的技術開発や基礎情報調査は、おおむね終了したといえる。したがって、成果 4 に関する中間レビュー調査時点での達成状況はおおむね適切と考えられる。

（5）成果 5

IPL 寄生虫学研究室では、JICA 長期専門家、JICA 短期専門家と IPL 寄生虫病研究室のラオス人スタッフ〔国立公衆衛生院（National Institute of Public Health：NIOPH）併任の研究員 1 名、ジュニア研究員 2 名及び技術補助員 2 名〕がプロジェクトの研究に取り組んでいる。中間レビュー調査までは研究実施体制の構築や収集した膨大な検体の基礎的な処理・分析等が中心であったが、中間レビュー調査以降は研究の計画や結果の解釈など研究者能力向上のためのディスカッションの機会を増やしていく予定であり、長期専門家の指導の下、英文での抄録作成や学会発表用ファイルの作成、並びに発表練習もより精力的に行う

予定である。

他方、プロジェクトでは現場の寄生虫病対策を担う県や郡の保健人材合計 156 名に対してマラリア及び寄生虫病対策に関する研修を提供している。このことは対象疾患の予防対策に資するだけではなく、研修を実施したことの副産物としてサンプル収集を国全体で定期的に行えるネットワークの構築につながった。

中間レビュー調査以降はより高度な分析や結果の取りまとめ、学術論文の執筆や学会発表の機会が多くなると考えられる。

以上のことから、中間レビュー調査時点での成果 5 に関する達成状況はおおむね適切であると考えられる。

(6) プロジェクト目標

成果の達成度で示したとおり、プロジェクトは中間レビュー調査時点において対象 3 疾患で新規知見や研究成果を創出している。また、IPL で活動する JICA 長期専門家〔国立研究開発法人国立国際医療研究センター（National Center for Global Health and Medicine : NCGM）研究者〕は国レベルの対策会議等にメンバーとして参加しており、研究成果の共有や技術的アドバイスを実施している。以上のことから、マラリアに関しては既に当初の目的の一部は達成していると考えることも可能である。中間レビュー調査以降も研究活動と並行して、研究成果を踏まえた保健省や WHO などの関係機関との情報共有や連携がさらに促進されることが期待される。

以上のことから、プロジェクト目標の中間レビュー調査時点での達成状況は良好であり、今後もラオスの寄生虫病対策に資する研究成果が得られることが期待される。他方、IPL 寄生虫学研究室のラオス人スタッフは若手が多く、中間レビュー調査以降は研究者としての更なる能力向上に向け、共同研究を実施することが求められる。

３－２　評価結果の要約

(1) 妥当性

プロジェクトの妥当性はこれまで高く維持されている。

ラオスでは他の東南アジアの国々と同様、近年の死亡原因における非感染性疾患の割合は増加傾向を示しているが、マラリア、メコン住血吸虫及びタイ肝吸虫症は、ラオス国民の健康及び社会経済に重大な影響をもたらす感染性疾患として認識されている。「第 8 次保健セクター開発 5 カ年計画 2016－2020」の中では、マラリアだけでなく本プロジェクトの対象疾患であるメコン住血吸虫症やタイ肝吸虫症などの寄生虫疾患に対する対策の重要性を明記しており、国際保健規則（International Health Regulation : IHR）等の国際的な基準に沿って国レベル、地方部の検査施設の機能強化（人材育成や品質管理なども含む）を行うことや、サーベイランス機能強化、薬剤耐性対策、健康教育の強化などが具体的な取り組みとして示されている。

また、日本政府は従前から感染症対策に関する支援を進めてきていた。国際保健政策 2011-2015 では顧みられない熱帯病（Neglected Tropical Diseases : NTD）対策、新興・再興感染症への備えと国際連携の推進がより明確に打ち出されていること、また、2015 年 9 月に日本政府が発表した「平和と健康のための基本方針」及び「国際的に脅威となる感染症対策の強化に関する基本方針」において公衆衛生危機・災害等の外的要因に対しても強靭な健康安全保障体制を構築すること、国際的に公衆衛生上の脅威となる感染症の発生国・地域に対する日本の貢献及び役割の強化がそれぞれ謳われている。2012 年 4 月に策定され

た我が国の対ラオス国別援助方針では、「保健医療サービスの改善」は 4 つの重点分野 の 1 つに位置付けられている。

以上のことから、共同研究を通じてラオスの保健医療サービスや薬剤耐性対策への貢献を目指している本プロジェクトの目標と、我が国のラオスに対する援助政策との一致性は高いと認められる。

（2）有効性

中間レビュー調査時点でのプロジェクトの有効性はおおむね高い。

プロジェクトは中間レビュー調査までに特にマラリアに関して、ラオスにおける流行状況（非症候性キャリアも含む）や薬剤耐性遺伝子変異の発生や拡散に寄与するメカニズム等について重要な知見や研究成果を得ており、学術論文として発表されている。中間レビュー調査以降はより多角的かつ高度な分析も予定されており、ラオスのマラリア対策にかかわる政策策定や具体的対策に資するより多くの研究成果が創出されることが見込まれる。また、簡便で感度の高い LAMP 法を用いた DNA 検出法も北部、中部、南部、ビエンチャンの主要な研究施設、検査施設に導入されており、それらの施設で寄生虫病対策に従事する保健人材の育成も進められている。

一方で、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症に関しては、LAMP 法による DNA 検出法について技術的には開発作業はおおむね終了している。これらの寄生虫病については、開発した遺伝子診断法をどのようにラオスの寄生虫病対策に適用させるか保健省や WHO 等の関係機関との協議が必要であるが、プロジェクトではこれらの方法を用いて疫学的な調査結果も得られていることから、中間レビュー調査時点での達成度としてはおおむね妥当であると考えられる。

このように、プロジェクトで得られた新規知見や研究成果は保健省や WHO などラオスのマラリア対策、寄生虫病対策に関係する行政機関、研究機関と適宜共有されている。IPL で活動する JICA 長期専門家（NCGM 研究者）は IPL 寄生虫学研究室スタッフとして、保健省や WHO 等の主催するマラリアや寄生虫病対策にかかわる会議に出席し、研究成果の共有や専門家として技術的なアドバイスなども適宜行っており、2016 年 1 月に保健省によって発表された「マラリア制圧及び撲滅に向けた国家戦略計画 2016－2020」の作成には、JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が IPL の代表としてアドバイザリーメンバーとして参加している。

このような共同研究による知見や成果に加え、共同研究や研修を通じたラオス人若手研究者や地方の保健行政官、医療従事者の能力強化も図られていることから、プロジェクト期間終了までにプロジェクト目標を達成する見込みは非常に高い。

（3）効率性

中間レビュー調査時点でのプロジェクトの効率性はおおむね高い。

本プロジェクトの日本側実施機関である NCGM や琉球大学、東京大学はプロジェクト開始前から IPL や NIOPH と共同研究を実施していたことから、プロジェクト開始時には既に協力関係はおおむね確立していた。特に IPL においては、NCGM が導入していた機器等を使用してプロジェクト開始当初から実験室作業が開始されている。しかしながら、研究機器・実験用試薬類をラオス国内へ輸入する際の無税通関許可をラオス政府から得るのに想定以上の時間（2 ～ 4 カ月）を要したケースがあった。

プロジェクトは初年度から円滑に研究活動が実施され、有効性に示したとおり既にいく

つかの科学的知見や研究成果が得られている。プロジェクトの後半はマラリアの集団遺伝学的手法を用いた遺伝子構造の時空間的解析など高度な研究が予定されている。また、タイ肝吸虫症罹患率低下に向けたポジティブ・デビエンスに基づく介入も検討されており、限られた期間ですべての予定されたプロジェクトの研究活動を完了するには、これまでに増して厳格な進捗管理が求められる。

(4) インパクト

プロジェクトの実施によって、以下に示す正のインパクトが確認または期待されている。

本プロジェクトでは将来的にラオス人だけで寄生虫病学研究室の機能を維持・向上できるように、ラオス人研究者の人材育成を行うことを強く意識して、共同研究活動を実施している。しかしながら、同研究室のラオス人スタッフは2名のジュニア・サイエンティストと2名の技術補助員であり、いずれも経験の浅い若手研究者といえる。したがって、プロジェクト期間終了後にラオス人研究者だけで寄生虫学研究室の機能を維持、向上することはプロジェクト期間内では困難であると考えられる。しかしながら、NCGMはラオス人研究者の長期的な人材育成の必要性からも、プロジェクト期間終了後も何らかの形でIPLでの共同研究を継続したいとの意向を示しており、長期的視点に立ったラオス人研究者の育成がプロジェクト終了後も継続されることが見込まれる。

また、「有効性」で示した通り、IPLで活動するJICA長期専門家（NCGM研究者）はIPL寄生虫学研究室スタッフとして、保健省やWHO等の主催するマラリアや寄生虫病対策にかかわる会議に出席し、研究成果の共有や専門家として技術的なアドバイスなども適宜行っていることから、創出された研究成果に基づいて策定されたラオスのマラリアや他の寄生虫病対策にかかわる政策・対策が実際に実行される見込みは一定程度期待できる。

このほか、プロジェクトを通して確認、期待される正のインパクトとして、①マラリア流行状況の医用昆虫学的研究に対する技術的貢献、②IPL内研究室間協力の促進、③プロジェクトで行った技術研修による大規模検体収集体制の確立、④他の医療施設等への研修講師派遣、⑤日本人若手研究者（大学院生）の育成、が挙げられる。

(5) 持続性

プロジェクトによって生み出された便益の自立発展、自己展開は中間レビュー調査時点においても一定程度見込まれる。

政策的・制度的側面：ラオスにおいてマラリアや寄生虫病対策の保健政策上の重要性は「第8次保健セクター開発5カ年計画2016－2020」でも明記されていることから、プロジェクト期間終了後もその重要性が維持される見込みである。他方、本プロジェクトでマラリア診断のためのLAMP法に基づくDNA検出法をラオスのマラリア研究及び臨床検査サービスに導入した。メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についても、LAMP法によるDNA検出法の開発は技術的にはおおむね終了している。マラリアについては、これまでの研究成果から非症候性マラリアや薬剤耐性遺伝子変異の分布など、今後のマラリア撲滅に向けて政策や対策を検討するために重要な研究結果が創出されることが見込まれる。メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についても集団駆虫後の非感染状態の維持に効果的な介入を提示することが見込まれることから、プロジェクトはこのようなさまざまな研究成果をいかに具体的にラオスの保健政策や具体的な対策に適用させるかについて、保健省等の関係機関と協議を開始することが望ましい。

財政的側面：プロジェクトの研究活動は、日本も含めて一般的には組織独自の研究予算の

みで実施することは不可能で、競争的研究資金など外部組織からの支援を獲得するための継続的な努力を行う必要がある。そのため、中間レビュー調査時点で研究継続のための財政的持続性を評価することは困難である。他方、プロジェクトで開発した遺伝子検査法などが技術的に確立した場合には、標準操作手順書などの作成に加え、必要な試薬や測定コスト等を取りまとめておくことが望ましい。また、タイ肝吸虫症に関して、集団駆虫後の非感染状態維持に向けた介入法などを保健省等に提示する際は、保健省等のユーザーが介入法の適用を計画しやすくなるようリソース分析（人材、教材、コストなど）の情報も実施ガイドライン等と併せて準備しておくことが必要である。

技術的側面：プロジェクトの後半では、特にラオス人研究者の研究者としての能力強化を念頭に置いて研究活動が進められる見込みである。将来の社会実装に向けてさまざまな研究成果が創出されると期待されるが、研究者として最終的には英文で学術論文として取りまとめる能力が備わることが必要である。研究者能力の向上は長期的視点で実施する必要があり、「インパクト」の項でも示した通り、日本側研究機関はさまざまな方法でプロジェクト期間終了後も共同研究を継続する意思を示しているが、ラオス人研究者もマラリアや寄生虫学を含む関連分野の学術論文を多く読み込むとともに、英語力強化に向けた努力を日常的に実施することが求められる。

３－３　効果発現に貢献した要因

(1) 計画内容に関すること

特になし。

(2) 実施プロセスに関すること

プロジェクトでは現場の寄生虫病対策を担う県や郡の保健人材合計 156 名に対してマラリア及び寄生虫病対策に関する研修を提供している。このことは対象疾患の予防対策に貢献することが期待されるものだが、研修を通してマラリア疑い患者サンプルを南部のマラリア侵淫地域から収集するネットワークの構築につながった。また、研修の実施を通して県や郡の保健局との信頼関係が醸成されたことで、フィールド調査を実施する際などは県保健局、郡保健局が積極的に調査に協力し、円滑なフィールド調査の実施につながっている。

これらのことは、プロジェクトの有効性と効率性の両方を高める促進要因として認められる。

３－４　問題点及び問題を惹起した要因

(1) 計画内容に関すること

特になし。

(2) 実施プロセスに関すること

日本から移送した研究機器や実験用試薬をラオスに持ち込むために討議議事録（Record of Discussions：R/D）で合意されている無税通関許可を政府から取得するのに数カ月を要したケースが多く認められた。特に使用期限の短い試薬については、ラオス国内で実験に供することのできる期間が短くなるような弊害も生じている。

このことによりプロジェクト成果達成には重大な影響は生じなかったが、共同研究活動の円滑な実施は若干阻害されたと考えることができるため、本件は効率性への阻害要因として整理できる。

３－５　結論

プロジェクトは中間レビュー調査時点までに、関係省庁や下部組織とともに実施体制を確立し、開発機関とのネットワークを醸成した。これら関係機関とのスムーズなコミュニケーション及び協力は、プロジェクトを前へと進め、さまざまな成果を生み出している。

マラリアについては、地方の医療従事者へ技術研修を提供した。その結果としてプロジェクトは数多くの検体を収集し、様々な研究が進捗し、重要な知見や研究成果が得られている。メコン住血吸虫症及びタイ肝血吸虫症研究の基礎的技術開発はおおむね完了している。

今後、より高度な研究成果を創出し、学術雑誌へ投稿されることが期待される。また、これらの研究を通じて若手研究者育成も進められている。

以上より、プロジェクトの「妥当性」は高く維持されており、「有効性」「効率性」「持続性」もおおむね高いことが確認された。また、プロジェクトは中間レビュー調査時点で多くの正のインパクトを創出しており、将来のラオスのマラリア、寄生虫病対策への貢献も期待できる。

３－６　提言（当該プロジェクトに関する具体的な措置、提案、助言）

(1) プロジェクトに対して

・プロジェクトが開発した試験法の標準化

プロジェクトが開発した DNA 検出法が技術的に確立した際には、プロジェクトは測定コストや試薬などの情報も併せて標準操作手順書（Standard Operating Procedure：SOP）等を作成することが求められる。

・ラオスにおけるマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法の適用

中間レビュー調査時点では、「Loopamp^{TM} MALARIA Pan/Pf Detection kit」がマラリア診断の補助診断法としての使用が開始されたところである。しかしながら、新規診断法等を実際の臨床医療に適用させるには、LAMP 法による DNA 検出法がラオスにおいてマラリア診断のための「公定法」として認証される必要があり、プロジェクトは認証を受けるに必要な臨床性能を評価するためのデータの蓄積を継続する必要がある。プロジェクトは、保健省に対して承認審査に必要な情報の提供を行うことが求められる。

・マラリア非症候性キャリアや薬剤耐性遺伝子変異モニタリングのための能動的サーベイランスシステムの構築

これまでのプロジェクトの成果から、ラオスにおいてマラリア非症候性キャリアや薬剤耐性遺伝子変異をモニタリングするための能動的サーベイランスシステムを実施する必要があることが強く示された。これに伴い、必要な品材や資機材、費用などを考慮に入れた能動的サーベイランスシステムの実施システムについて、JICA 専門家は CMPE と協議することが求められる。

・タイ肝吸虫症対策のための介入

タイ肝吸虫症対策について、プロジェクトが介入試験の実施を計画する場合には、厳密な工程管理を行うことが求められる。また、プロジェクトは残りの期間で介入効果を測定できるような指標を慎重に決定する必要があるとともに、保健省の実施する集団駆虫のタイミングも考慮して介入の実施時期を決定する必要がある。また、介入効果が確認された場合には他の地域への適用も考慮されると考えられることから、プロジェクトは具体的な実施計画を作成する際に必要なリソース情報（粉剤、資機材、運用コスト等）

を保健省に提供することが求められる。

・メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の診断のための LAMP 法による DNA 検出法の活用

メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の診断のための LAMP 法による DNA 検出法がプロジェクトで開発されている。保健省や県保健局が特定の地域で実施している流行状況調査のための能動的サーベイランスにおいては、それらの寄生虫病診断に顕微鏡法が使用されている。顕微鏡法の感度、特異度は低いため、もし LAMP 法による DNA 検出法が能動的サーベイランスに適用されれば、より正確な流行状況の測定に貢献すると考えられる。したがって、プロジェクトはこれらの検査法を具体的にどのように活用するかについて保健省と協議することが求められる。

・プロジェクトのアドボカシーと PR 活動

マラリアや他の寄生虫感染症の制圧及び撲滅のための住民意識の向上やコミュニティ動員を促進するために、プロジェクトはプロジェクトの研究で得られた知見や成果の効果を促進することを念頭にアドボカシーや PR 活動を強化することが推奨される。

・ラオス人若手研究者の能力開発

プロジェクトはこれまでも既にラオス人若手研究者の能力開発に取り組んできた。プロジェクトは利用できる予算や時間を考慮に入れながら、このような努力を継続することが重要であり、そのために詳細な実施計画を作成することが求められる。プロジェクトがラオス人若手研究者育成計画を作成する際には、国費交換留学制度など利用可能なさまざまな制度の活用も考慮することが求められる。

・プロジェクト・デザイン・マトリックス（Project Design Matrix：PDM）の改定

中間レビュー調査チームは、PDM の「プロジェクトの要約」や指標を適切に本来の共同研究のコンセプトと一致させる必要性があることを確認した。プロジェクトは、円滑なプロジェクト管理のために PDM を改定することが求められる。

（2）保健省に対して

・研究機器や試薬等に対する無税通関措置のための承認に係る状況の改善

研究機器や試薬等を日本からラオスに移送する際に、R/D に規定されている無税通関措置に関してラオス側当局の承認手続きに想定以上の時間を要している。特にいくつかの試薬では使用期限の短いものがあり、通関で一定期間留め置かれることで、ラオス国内で利用できる有効期限までの期間が短くなった場合もある。プロジェクトはこれまでも保健省や財務省などの関連省庁に対して改善を訴えてきたが、中間レビュー調査時点では状況に改善は認められていない。よって、保健省はこのような状況の改善に向けて中間レビュー後に早急に対処することが強く求められる。

・研究で得られた知見や成果の政策や対策への活用や適用

本プロジェクトは SATREPS の枠組みで実施されていることから、プロジェクトの達成事項（研究で得られた知見や成果、共同研究メカニズム、人材育成など）が政策や対策の策定に具体的に適用、活用されることが、ラオスのマラリアや他の寄生虫感染症の制圧・撲滅に関わる関係当局（特に保健省）に対して強く推奨される。

(3) ラオス人若手研究者に対して

・国際的競争力向上に向けた更なる自己研鑽

ラオス人若手研究者が国際的競争力を獲得するためには、自助努力により最新の科学的研究に触れることが重要である。この実現に向け、ラオス人若手研究者はより多くの英文学術論文を読むことや、ジャーナルクラブ（抄読会)、新しい科学技術の情報収集、将来の博士の学位取得機会の検索など、自己研鑽を積むことが勧められる。

３－７　教訓（当該プロジェクトから導き出された他の類似プロジェクトの発掘・形成、実施、運営管理に参考となる事柄）

プロジェクト開始当初はマラリア疑い患者サンプル収集をフィールド調査で実施していたため、さまざまな分析を実施するために十分な数を収集することができなかった。他方、プロジェクトは効果的なマラリア、寄生虫病対策を行う上で地方の保健行政官や医療従事者などの保健人材の能力強化の必要性の認識から、寄生虫学に関する技術研修を合計 156 名の保健人材に対して実施した。この研修を通してプロジェクトと地方の保健人材の信頼関係が醸成され、副産物として大規模なマラリア疑い患者検体を効率的に収集できるネットワークの構築につながった。また、コミュニティ住民に対するフィールド調査を実施する際にも、県保健局や郡保健局の協力により、円滑にフィールド調査が実施できている。

このように、特にプロジェクト活動を行う上で部外者の協力が必要となることが想定される場合は、現地の文化・環境を考慮に入れながら、本格的なプロジェクト活動の開始に先立って信頼関係が得られるようなコミュニケーションを行うことが重要であると考えられる。

Evaluation Summary

<table>
<tr><td colspan="3">1. Outline of the Project</td></tr>
<tr><td colspan="2">Country: the Lao People's Democratic Republic</td><td>Project Title: The Project for Development Innovative Research Technique in Genetic Epidemiology of Malaria and Other Parasitic Diseases in Lao PDR for Containment of Their Expanding Endemicity</td></tr>
<tr><td colspan="2">Issue/Sector: Health and Medical Services</td><td>Cooperation Scheme: Technical Cooperation Project (Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development: SATREPS)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Division in charge: Health Team 4, Health Group 2, Human Development Department</td><td>Total Cost: 380 million JPY</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Period of Cooperation</td><td rowspan="2">(R/D):
1/May2014-30/APR/2019</td><td>Partner Country's Implementing Organization: the Center of Malariology, Parasitology and Entomology (CMPE) of the Ministry of Health (MOH) and Institut Pasteur du Lao (IPL)</td></tr>
<tr><td>Supporting Organization in Japan: The National Center for the Global Health and Medicine (NCGM), the University f Tokyo (UT), the University of the Ryukyus (UR), the Juntendo University and the Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
Other Related Projects: N/A</td></tr>
<tr><td colspan="3">1-1. Background
Parasitic diseases such as malaria and other trematode infections (Schistosomiasis mekongi, Opisthorchiasis viverrini, etc.) put a severe burden on the socioeconomics in the Lao People's Democratic Republic (hereinafter referred to as "the Lao PDR"). It is considered to be an urgent need to strengthen the countermeasures based on the scientific evidences to meet the international demands, not just for the Lao PDR, for effective infectious disease control measures as well as preventing the emergence of drug resistance, which are regarded as global issues. Accordingly, based on the request of the Government of the Lao PDR, JICA commenced a 5-year technical cooperation entitled "the Project for Development Innovative Research Technique in Genetic Epidemiology of Malaria and Other Parasitic Diseases in Lao PDR for Containment of Their Expanding Endemicity" (hereinafter referred to as "the Project") form May 2014 with CMPE and IPL of the MOH, under the scheme of SATREPS.

The Joint Mid-term Review will be conducted jointly with authorities concerned of the Lao side to review performance and achievements of the Project, and to provide recommendations to offer solution against current challenges as well as a direction of the Project for the rest of the project period.

1-2. Project Overview
(1) Project Purpose
Research results based on the methods for the genetic epidemiology diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are utilized in government services such as in diseases control.</td></tr>
</table>

(2) Outputs

1) More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are developed and utilized.
2) Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini is monitored.
3) Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.
4) Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government.
5) Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.

(3) Input (as of the Evaluation)

The Japanese Side

- Dispatch of JICA Experts: Long-term Experts: a total of 3 persons (1 for parasitology research and a total of 2 Project Coordinators, a total of 57 M/M), Short-term Experts: a total of 46 persons (10 M/M)
- DNA Sequencer, electrophoresis imaging system, multi-gas incubator, spectrophotometer, deep freezers, automatic electrophoresis apparatus, realtime-PCR system, etc. (approx. USD 642,777)
- Invitation of Researchers from Abroad: a total of 6 persons (Sharing the research progress and outcomes, discussion on the research plan of operation, etc.)
- Training in Japan: a total of 2 persons (malaria diagnosis, drug susceptibility test, genetic analyses, epidemiological study, etc.)
- Local Cost: approx. USD 443,098)

The Lao Side

- Counterparts: a total of 20 persons (9 from the MOH; 2 from CMPE; 6 from IPL and 3 from NIOPH)
- Facilities, Equipment and Materials: Laboratory and office spaces in IPL, existing research instruments, equipment and/or devices in IPL and provincial CMPE, and available data, information and/or specimens related to the Project
- Local Costs: Utilities for the project office and total amount of IPL burden other than JICA's share of cost sharing, equipment maintenance management etc.: approx. USD 75,915

2. Mid-term Review Team

Members	Dr. Kaname KANAI	Leader	Executive Technical Advisor to the Director General, Human Development Department, JICA
	Ms. Eri FUJITA	Cooperation Planning	Staff, Health Team 4, Health Group 2, Human Development Department, JICA
	Dr. Yoichi INOUE	Evaluation and Analysis	Senior Consultant, Consulting Division, Japan Development Service Co., Ltd.

	Prof. Dr. Kiyoshi KITA (Observing member)	Infectious Diseases Control Research	Program Officer, International Collaborative Research Program, Department of International Affairs, Japan Agency for Medical Research and Development (AMED) Dean, Professor, Nagasaki University, School of Tropical Medicine and Global Health
	Mr. Katsumi ISHII (Observing member)	Planning and Evaluation	Deputy Manager, Division of International Collaboration, Department of International Affairs, AMED
Period of Evaluation	27/Nov/2016 - 17/Dec/2016		Study Type: Mid-term Review

3. Summary of Evaluation Results

3-1. Achievements

(1) Output 1

Concerning malaria, the Project developed the PCR-based plasmodium DNA detection method for malaria research in the IPL. In the Project, the LAMP-based plasmodium DNA detection method for diagnosing malaria of "*LoopampTM MALARIA Pan/Pf Detection Kit*" developed by EIKEN CHEMICAL CO., LTD., which is rapid and easy to operate and has high sensitivity, was introduced to the IPL and the CMPE of the MOH in Vientiane and the Stations of Malariology, Parasitology and Entomology (SMPEs) in Luang Prabang Province (north), Savannakhet Province (center) and Champasack Province (south) with cooperation provided by the company. Since these 3 provinces are hubs for administering each area, it can be said that all areas of the Lao PDR were covered via introduction at these 4 locations. However, in order to apply new diagnostic methods in the clinical practices, it is necessary for the Project to continue to accumulate data to evaluate its clinical performance for gaining approval of the LAMP-based plasmodium DNA detection method as an official "*standard methods*" for malaria diagnosis in the Lao PDR. Following the Mid-term Review, it is intended to build a store of information for assessing clinical performance and to receive accreditation as an official method by the time of the next revision of "*the guidelines for malaria prevention and diagnosis*".

Concerning the LAMP-based DNA detection method for Schistosomiasis mekongi diagnosis, this was found to be approximately 8 times more sensitive than that of conventional microscopic method in the comparative test conducted in October 2016, and it has been applied to the analyses of its intermittent host snails in the Project. If this method is used for active surveillance for grasping endemicity by the MOH and so on, it will contribute to more accurately measuring endemicity. On the other hand, although the development work of the LAMP-based DNA detection method for Opisthorchiasis viverrini diagnosis has been completed technically, since the reliability of test results obtained by the microscopic method, which are used as a benchmark, cannot be guaranteed, it is difficult to evaluate the sensitivity and specificity of the method by comparative study.

Summing up, considering the objectives and purpose of each genetic detection method, it can be said that the genetic diagnostic methods necessary for conducting parasitic disease research and countermeasures in the Lao PDR are being smoothly developed; hence, progress of Output 1 at the time of the Mid-term Review is generally deemed to be appropriate.

(2) Output 2

As findings under the Output 2, the Project has clearly shown that the ratio of Falciparum malaria cases among reported cases of malaria in the Lao PDR is declining every year, while the ratio of Vivax malaria cases is increasing. Moreover, the active surveillance of community residents in endemic areas performed by the Project has shown that there are more asymptomatic carriers of Plasmodium vivax than expected.

Concerning malaria, the Project is working on the identification of malaria plasmodia based on the PCR method is being conducted as of the time of the Mid-term Review and once this work is finished it is supposed to spatio-temporally analyze the changes in the genetic structure of malaria plasmodia using population genetic techniques including eBURST using micro satellite markers.

Meanwhile, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, it became clear to be difficult to perform evaluation of spatio-temporal changes in the genetic structure of parasites as well as determining and/or spreading factors of its endemicity since the number of residents with S. mekongi and O. viverrini is too small and too large, respectively.

It is deemed from general assessment that the degree of achievement of Output 2 has largely been appropriate as of the time of the time of the Mid-term Review.

(3) Output 3

Since chloroquine resistant Falciparum malaria was dominant in the Mekong region, the use of chloroquine is prohibited for its treatment in the Lao PDR. However, on conducting analysis of chloroquine resistant gene of pfcrt in the Project, it was confirmed that chloroquine-sensitive (wild type) Plasmodium falciparum is increasing (see Activity 3-1). It is guessed that the decline in chloroquine selection pressure is one of the factors behind the increase in wild-type Plasmodium falciparum.

Moreover, as a result of analyzing the K13 gene that is considered to be related to the resistance against artemisinin, no mutations were observed in the gene in any of the samples collected in Savannakhet Province in 2010; however, genetic mutation (C580Y), which contributes to artemisinin resistance, was detected in 3% of the samples collected in 2015. This indicates that either the indigenous plasmodium K13 genes of Savannakhet Province underwent mutation or a plasmodium population with K13 gene mutation entered the province from another area. On the other hand, in the survey that was implemented in Salavan Province adjacent to Savannakhét Province, C580Y mutation of the K13 gene was observed in 63% of the tested samples, a significantly higher figure than the 3% in Savannakhét Province. This suggests that there is already a high distribution of K13 gene mutation, which is responsible for artemisinin resistance, in Salavan Province, and that there is a wide disparity in the level of distribution between the 4 southern provinces.

In order to conduct a more detailed examination of the mechanism behind the emergence and expansion of drug resistant genes, the Project intends to search more other new drug resistant markers. However, as was stated above, since important findings have already been gained concerning the mechanism behind the emergence and expansion of drug resistant genes as of the time of the Mid-term Review, the degree of achievement of the Output 3 is deemed to be appropriate at the time of the Mid-term Review.

(4) Output 4

The Project has discovered that 11% of community residents infected with malaria in endemic areas are asymptomatic carriers, and this is going to be an important factor for conducting malaria countermeasures

in the Lao PDR in future. Since this survey revealed that there is a higher rate of infection especially among adult males including forest workers who work outdoors, the Project will work on the development of social-scientific approach(es) in cooperation with the MOH and WHO with a view to preventing these infections following the Mid-term Review.

Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini too, it is necessary to carefully consider the means of conveying messages. Concerning Opisthorchiasis viverrini, it was found that cutting boards tend to be more hygienically managed after cutting fish in the households of non-infected persons compared to those in the households of infected persons. This suggests the possibility of a "positive deviance" for the prevention of infection. Following the Mid-term Review, laboratory testing will be performed to demonstrate the existence of O. viverrini in cutting board residues, and intervention testing from the viewpoint of positive deviance aimed at sustaining non-infection following implementation of mass extermination by praziquantel is also being considered.

Summing up the above points, it may be said that development work has been more or less finished on the basic LAMP-based testing methodology and basic information survey geared to the prevention and control of target diseases in the second half of the Project. Accordingly, the degree of achievement concerning Output 4 is thought to appropriate in general at the time of the Mid-term Review.

(5) Output 5

At the IPL Parasitology Laboratory, one (1) JICA expert (NCGM researcher), one (1) Lao scientists, two (2) Lao junior scientists and two (2) Lao technicians are engaged in the project research directly. Up until the time of the Mid-term Review, project research activities mainly comprised construction of the research implementation setup and the basic experiments, analyses, etc. of the huge volume of collected samples. However, following the Mid-term Review, it is intended to increase discussion opportunities geared to improving the capacity of Lao laboratory staff members in the areas of planning research and interpreting results and so on. Under the guidance of the JICA long-term experts, it is also supposed to actively prepare abstracts and conference presentation slides in English and practice giving presentations.

Meanwhile, the Project has offered training on malaria and parasitic disease control to a total of 156 health personnel engaged in parasitic disease control on the ground in districts and provinces. Not only has this made a contribution to measures for the prevention and control of target diseases, but it has also helped build a nationwide network, as a byproduct of training, for periodically collecting samples.

Following the Mid-term Review, it is supposed that more advanced analyses and summation of findings will be performed and that there will be increased opportunities to write scientific articles and give presentations at conferences. Accordingly, the degree of achievement concerning the Output 5 is thought to generally appropriate as of the time of the Mid-term Review.

(6) Project Purpose

As described in the "*Achievements of Outputs*" above, the Project already gained novel findings and research outcomes regarding the three target parasitic diseases as of the time of the Mid-term Review. Further, the JICA long-term experts (NCGM researchers) stationed in the IPL have shared the research findings and outcomes and offered technical advice when participating in national conferences on malaria control. In view of the above points, it can be said that some of the original objectives of the Project especially for malaria

have already been achieved. Following the Mid-term Review, while continuing the research activities, it is anticipated that information sharing and cooperation based on the research findings and outcomes will further be promoted with the MOH, WHO and other related agencies.

In view of the above points, the achievement of the Project Purpose at the time of the Mid-term Review is satisfactory and it is anticipated that research findings and outcomes that make a contribution to future parasitic disease countermeasures in the Lao PDR can be obtained. Meanwhile, since many of the staff members of the IPL Parasitology Laboratory are young and less experienced, it will be necessary to enhance joint work aimed at enhancing their capacity as scientists following the Mid-term Review.

3-2. Summary of Evaluation Results

(1) Relevance

The relevance of the Project has been highly maintained hitherto.

Though the proportion of non-communicable diseases for the cause of death in the Lao PDR is increasing in recent years likewise other Southeastern Asian countries, malaria and other parasitic diseases such as Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are still recognized as burdens to nation's health as well as socio-economics in this country. Moreover, the significance of taking measure for the control not only for malaria but also other parasitic diseases including Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the target diseases of the Project, is clearly mentioned in the "*Eighth 5-year Health Sector Development Plan 2016-2020*". The Plan stipulates the specific areas to be addressed as follows: capacity enhancement of both national and local laboratories (including human resource development and quality control) in accordance with the requirements of the IHR and other international standards; the reinforcement of infectious disease surveillance system; the control of drug resistance; and the strengthening of health education.

Meanwhile, the Government of Japan has been promoting aid activities for infectious disease control, and the "*Global Health Policy 2011-2015*" clearly come out with the promotion of NTD control, preparedness for emerging and reemerging infectious diseases and international collaboration for it. Furthermore, in its "Basic Design for Peace and Health (Global Health Cooperation)" and "Basic Policy on Strengthening Countermeasures for Infectious Diseases that Pose a Threat to Global Society", both publicly announced in September 2015, the Government of Japan states to build a health security that is resilient to external factors such as public health emergencies and disasters and to strengthen Japan's contribution and roles for the countries and regions facing the pandemic outbreaks of public health concerns. The Japan's Aid Policy for the Lao PDR, issued in April 2012, stipulated the "Improvement of health and Medical Services" as one of four priority areas for assistances.

For these reasons, the Project, aiming to contribute the improvement of health and medical services as well as the control of drug-resistant malaria in the Lao PDR through the collaborative research and technical cooperation, is deemed to be highly consistent with the Japan's Aid Policies.

(2) Effectiveness

The effectiveness of the Project is high in general at the time of the Mid-term Review.

The Project obtained important research findings and outcomes of especially in malaria research with regard to the prevalence of the plasmodia (including asymptomatic carries) as well as the mechanism responsible for the emergence and expansion of drug resistance gene mutation, and some of achievement have already been

published in international scientific journals as of the time of the Mid-term Review. Since more multidirectional and advanced analyses are supposed to be performed following the Mid-term Review, it anticipated that the Project will obtain more research outcomes that will contribute to making concrete measures for the control and elimination of malaria. Further, the Project has introduced the simple and highly-sensitive LAMP-based DNA detection method to three (3) major SMPEs of the Provincial Health Offices (PHOs) that covers northern, central and southern regions as well as national level research institutes (the CMPE and the IPL) in Vientiane, in parallel with the implementation of capacity development of health personnel engaged in the control of malaria and other parasitic diseases on the ground.

Meanwhile, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the Project has almost completed development work on the Lamp-based DNA detection methods for each parasitic disease as of the time of the Mid-term Review. It is required for the Project to have a series of discussions with relevant parties such as the Lao MOH and WHO about how to apply those LAMP methods to the control of parasitic diseases in the Lao PDR; nevertheless, the Project also gained epidemiological research results for each parasitic disease using the said detection methods. For these reasons, it is deemed that the degree of the achievement of the Project Purpose is appropriate in general as of the time of the Mid-term Review.

Summing up, the novel research findings and outcomes has effectively been shared with the administration bodies and research institutes engaged in the control of malaria and other parasitic diseases in the Lao PDR such as MOH and WHO. The JICA expert (NCGM researcher), as a representative of the IPL Parasitology laboratory, participated various meetings and conferences for the control of malaria and parasitic diseases staged by the MOH, WHO and so on, and provided research results, findings and technical advices based on his expertise and experiences. It is worth noting that the JICA expert has participated editing work for "the National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination 2016-2020" as an advisory member.

On top of the research findings and outcomes gained from the project collaborative research, the Project has been putting efforts to capacity development not only of Lao young researchers but also health administrative officers and medical professionals on the ground through joint research work and trainings provided by the Project. For these reasons, it is highly anticipated that the Project Purpose is achieved by the end of the project period.

(3) Efficiency

The efficiency of the Project is high in general as of the time of the Mid-term Review.

The Japanese project member organization such as the NCGM, UR and UT have been doing collaborative research with the Lao project implementers such as the IPL and the NIOPH before the commencement of the Project, that is to say, the collaborative relationships have already been developed at the time of the commencement of the Project. Especially in the IPL, the project research activities have smoothly started in the IPL using existing research instruments and equipment, which had been introduced by the NCGM. However, the Project sometimes encountered difficulties that it took longer-than-expected time (approx. 2 to 4 months) to go through procedures for acquisition of tax exemption certificates for research instruments, reagents, etc. from the Lao authority concerned.

The Project has been working smoothly from the 1st year of the project period, and several scientific findings and outcomes have already been gained as described in the "Effectiveness" section. Following the Mid-term Review, the Project is planning to perform more advanced research such as spatio-temporal analyses of

genetic structure of parasites using population genetic analysis techniques. Moreover, the Project is planning to conduct “positive deviance”-based interventions for the reduction of the prevalence of Opisthorchiasis viverrini. Therefore, it is strongly required for the Project to conduct stricter progress management in order to complete all the planned activities within the limited project period.

(4) Impact

The following positive impacts are confirmed and expected by the implementation of the Project.

The JICA experts have been working on the project research activities in consideration of nurturing Lao researchers so that, in future, they will be able to run and to maintain or even enhance the research capacity of the IPL Parasitology Laboratory by themselves. However, at this moment, the Lao staff members in the Laboratory are two (2) junior scientists and two (2) technicians, and they are regarded as young and not have much experiences. Thus, it is deemed to be difficult for the Lao researchers alone to acquire the capacity enough to maintain or even enhance the function of the IPL Parasitology laboratory within the project period. Having said that, NCGM indicated a clear intention to maintain this collaborative research (i.e., the Lao-Japan Joint Laboratory) in the IPL by any means on the basis of the recognition of the necessity of long-term efforts for nurturing Lao scientists. For these reasons, it is anticipated, even at the time of the Mid-term Review, that the efforts to nurture Lao researchers will be continuing with a long-range point of view.

On the other hand, as was described in the “Effectiveness” section, the JICA expert (NCGM researcher), as a representative of the IPL Parasitology laboratory, participated various meetings and conferences for the control of malaria and parasitic diseases staged by the MOH, WHO and so on, and provided research results, findings and technical advices based on his expertise and experiences. Therefore, it is anticipated, to a certain extent, that policies and/or countermeasures for the control of malaria and other parasitic diseases, developed on the basis of the research outcomes gained by the Project, will practically be implemented in the Lao PDR in future.

Meanwhile, the positive impacts derived from the Project are as follows: 1) Technical contribution to the medical entomological research on malaria endemicity; 2) Promotion of Inter-laboratory collaboration for cross-cutting research in the IPL; 3) Establishment of Mass Sample Collection System on the basis of the Technical Training implemented by the Project; 4) Dispatch of IPL Lecturers for other Medical Facilities and 5) Nurturing Japanese young researchers (Postgraduate students).

(5) Sustainability

A self-sustainability as well as a self-deployment of the benefits provided by the Project can be expected to some extent as of the time of the Mid-term Review.

Political and Institutional Aspects: The significance of the control of malaria and other parasitic diseases will be maintained even after the termination of the project period since the significance is clearly stated in “the Eighth 5-Year Health Sector Development Plan 2016-2020”. Meanwhile, the Project has introduced the LAMP-based plasmodium DNA detection methods for the diagnosis and research of malaria, and more or less completed to develop the LAMP-based DNA detection methods for the diagnosis of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini from the technical point of view. Concerning malaria, it is anticipated that more important research findings and outcomes with regard to asymptomatic malaria, the distribution of gene mutation responsible for drug resistance and so on based on the achievements in the 1st half of the

project period will also be generated and utilized for discussing policies as well as countermeasures for future elimination of malaria in the Lao PDR. Further, it is also expected that the Project will present effective intervention(s) for maintaining infection-free status after mass extermination of S. mekongi and O. viverrini by anthelmintic agents. Therefore, the Project should commence discussions with relevant parties such as the MOH regarding how these research outcomes be applied to health policies or countermeasures for the control of malaria and other parasitic diseases practically.

Financial Aspect: Including the cases in Japan, in general, project search activities cannot be financed by the specific research budget of the organization only and continuous efforts are necessary to obtain support from external organizations such as competitive research funds. Therefore, it is difficult to evaluate the financial sustainability for the continuation of research at the time of the Mid-term Review. On the other hand, the Project should prepare Standard Operating Procedures, etc. with necessary information such as reagents and costs for testing for each DNA detection method once it is technically well established. By the same token, concerning Opisthorchiasis viverrini, the Project is required to present the information regarding resource analyses such as necessary human resources, materials, implementation costs, etc. with technical guidelines for maintaining infection-free status after mass extermination of O. viverrini by anthelmintic agents in consideration of easy application and/or budget planning by the users (the MOH, development partner organizations, etc.).

Technical Aspect: The Project is supposed to put more focus on the capacity development of Lao researchers as scientists for the latter half of the project period. Further, the Project is anticipated to generate research findings and outcomes with an eye on future practical application of them to society; at the same time, the Lao researchers are required to acquire capacity to develop scientific articles in English by themselves eventually. The capacity development of the Lao researchers should be continued with a long-term point of view, and as was described in the "Impact" section, the Japanese research institutes indicate their intention to continue the collaborative research with the Lao counterpart organizations by any means even after the end of the project period. Having said that, especially for Lao young researchers, it is required for them to make more efforts for the acquisition of novel and advanced technologies of health sciences including malariology and parasitology, in parallel with the day-to-day practice for improving English skill.

3-3. Factors that promoted the attainment of the Project

(1) Concerning the project design

No major promoting factor have been observed as far as the project plan is concerned.

(2) Concerning the implementation process of the Project

As just described above, the Project provided a total of 156 health personnel with trainings for capacity enhancement in parasitology, which are beneficially utilized their daily duties regarding prevention and control of parasitic diseases. Simultaneously, the training brought a byproduct to establish a network of sample collection from malaria-suspected patients in southern endemic areas in the Lao PDR. Further, on the basis of the trustworthy relationship, field survey exercises were smoothly conduct with the great support from the PHOs and District Health Offices.

This is regarded as a contributing factor for both "*Effectiveness*" and "*Efficiency*" of the Project.

3-4. Factors that impeded the attainment of the Project

(1) Concerning the project design

No major obstacles have been observed as far as the project plan is concerned.

(2) Concerning the implementation process of the Project

There were several cases that it took a couple of months to obtain certifications of tax exemption on the basis of the R/D for the research instruments as well as reagents, which were brought from Japan. Some reagents with relatively short valid period had been shortened the days for expiration date since it had been kept in the customs for a certain period of time.

Though it had not caused critical influence on the project activities, it is deemed to hinder the smooth implementation of project activities to some extent. Thus, this is regarded as a hindering factor against the efficiency of the Project.

3-5. Conclusions

The Project established the implementation structure with related ministries and subordinating organizations, and generated the beneficial network with development partners by the time of the Mid-term Review. The communication and coordination among the Project and these related organizations put the Project forward, and generated the various research outcomes.

Concerning Malaria, the Project provided the technical training for the medical professionals in local areas. As the results of it, the Project succeeded in collecting great number of samples, proceeded various research, and obtained important findings and outcomes. Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the DNA detection methods have mostly been developed.

It is expected for the Project to generate further important research findings and outcomes, and to publish scientific papers. The Project also nurtured the Lao young researchers by working together with the JICA experts.

For these reasons, the Team observed that the Relevance of the Project is highly maintained, and the Effectiveness, the Efficiency and the Sustainability are also seemed to be high in general. Besides, the Team also found several positive impacts even at the time of the Mid-term Review; further, the achievements of the Project is anticipated to contribute the effective control of malaria and other parasitic diseases in the near future.

3-6. Recommendations

(1) To the Project

- Standardization of testing methods developed by the Project
  When the DNA detection methods, developed by the Project is established technically, it is required for the Project to develop the SOPs with the information regarding costs for measurement and reagents, and so on.

- Application of the LAMP-based DNA detection method for the malaria diagnosis in the Lao
  At the time of the Mid-term Review, practical use of the "*LoopampTM MALARIA Pan/Pf Detection kit*" had been commenced as a support method for malaria diagnosis. However, in order to apply new

diagnostic methods in the clinical practices, it is necessary for the Project to continue to accumulate data to evaluate its clinical performance for gaining approval of the LAMP-based plasmodium DNA detection method as an official "standard methods" for malaria diagnosis in the Lao PDR. It is required for the Project to provide necessary information to the MOH for their approval review.

- Establishment of active surveillance system for the monitoring of malaria asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation

  From the results of the Project, it is strongly demonstrated that there is a need to implement active surveillance in order to monitor asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation in the Lao PDR. Accordingly, it is required for the JICA experts to discuss with the IPL and the CMPE of the MOH, with regard to the implementation system of the active surveillance system by taking human resource, materials and costs into consideration in future.

- Intervention for the control of Opisthorchiasis viverrini

  Concerning Opisthorchiasis viverrini, in case that the Project plans to implement intervention trial, strict progress management is needed. Further, indicators for measuring intervention effects should be determined carefully so that the Project can evaluate the intervention effects by the end of the project period, and the timing of intervention is also carefully determined in consideration of the timing of mass extermination that is organized by the MOH. Additionally, given that the impacts of the intervention are confirmed, the application of it to other areas will be considered. Therefore, it is required for the Project to provide necessary information about the resources (e.g. human resource, materials, operational costs and so on) to the MOH, for supporting them to build the practical implementation plan.

- Utilization of the LAMP-based DNA detection methods for diagnosing Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini

  The LAMP-based DNA detection method has been developed for Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini. Microscopic method is used for the diagnosis of the said parasitic diseases when the MOH and PHOs perform active surveillance to investigate its endemicity in specific areas. The microscopic method has low sensitivity and specificity, then if the LAMP-based DNA detection is applied for the active surveillance, it will contribute more accurate measurement of endemicity. It is required for the Project to discuss with the MOH regarding the way of its utilization.

- Advocacy and PR activities of the Project

  In order to promote the awareness and social mobilization for control of malaria and other parasitic diseases, the Project is recommended to strengthen the advocacy and public relations activities in light of enhancing the effect of project research findings and outcomes.

- Capacity development of the Lao young researchers

  The Project has already been working on capacity development of the Lao young researchers. It is important for the Project to continue such efforts in consideration of available budget and project period, and subsequently to develop a detailed plan for it. When the Project develops a plan for nurturing the Lao young researchers, the Project should consider utilizing the various schemes available, including government-sponsored exchange students and so on.

- Revision of the PDM
  The Mid-term Review Team observed the necessity to adjust the narrative summary and OVIs to align the original concept of the collaborative research properly. It is required for the Project to revise the PDM for the smooth progress management.

(2) To the MOH

- Improvement of the situation regarding the certification of tax exemption for research instruments and equipment.
  When research instruments and equipment were brought from Japan to the Lao PDR, it took longer time than expected to go through procedures for acquisition of tax exemption certificates for them from the Lao authority concerned in accordance with the R/D. Especially, some reagents with relatively short valid period had been shortened the days for expiration date since it had been kept in the customs for a certain period of time. The Project had appealed improvement to relevant ministries and agencies such as the MOH, the Ministry of Finance; however, this situation has remained unchanged as of the time of the Mid-term Review. Therefore, it is strongly required for the MOH to cope with the problem right after the Mid-term Review.

- Translation and/or application of research findings and outcomes into policies and/or countermeasures
  Since the Project is implemented under the scheme of the SATREPS, practical application and/or translation of the project achievements (i.e., research findings and outcomes, research collaboration mechanisms, human research development, etc.) into modifying and/or improving policies, countermeasures, etc. are strongly encouraged to the authorities concerned, especially for the MOH, of the control and elimination of malaria and other parasitic diseases in the Lao PDR.

(3) To the Lao Young Researchers

- Further Self-Help Endeavor to enhance International Competitiveness
  It is important for the Lao young researchers to come in touch with the advanced scientific research by themselves, in order to acquire international competitiveness. To achieve it, the Lao young researchers are advised to carry out self-help efforts further, such as reading more English papers, holding journal club, capturing novel information, seeking opportunities to obtain Ph.D. degree in the future and so on.

3-7. Lessons Learnt

(1) At the initial phase, the Project encountered difficulties to collect enough number of samples from malaria-suspected individuals only by field activities of the Project to perform various analyses. Meanwhile, on the basis of the recognition of the capacity enhancement of health personnel on the ground such as local health administrative officers and medical professionals in light of effective implementation of measures for the control of malaria and other parasitic diseases, the Project provided a total of 156 health personnel with technical training for parasitology. Though the implementation of the said training, the Project, as a byproduct, succeeded in nurturing a trustworthy relationship with them, resulted in the establish the large-scale network of sample collection in the Lao PDR. Further, the Project has conducted field activities targeting community residents smoothly with the support of the provincial and district health officers.

In this wise, in case that a project is necessitated to receive cooperation from persons and/or organizations, the project should put efforts to communicate for establishing trustworthy relationship in consideration of local culture, environment and so on, in advance of full operation of project activities.

(2) XX

3-8. State of the follow-up

第１章　中間レビューの調査概要

１－１　調査団派遣の経緯

ラオス人民民主共和国（以下、「ラオス」）では、マラリアや吸虫症（メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症等）をはじめとする重要寄生虫感染症が深刻な社会経済的負荷となっている。同国政府はこれまでに開発パートナー機関等の支援を受けて長期残留型殺虫剤含有蚊帳（Long-Lasting Insecticide-Treated Nets：LLIN）の配布、駆虫剤の供与を行ってきた。しかしながら、効果的な感染対策や薬物耐性発現防止など、ラオス国内だけでなく、地球規模課題対策の観点から国際社会のニーズに対応するためにも、科学的根拠に基づく対策計画の策定をより強化することは喫緊の課題である。

係る状況に対応するため、ラオス政府の要請に基づき、2014 年 5 月から 5 年間の予定で「マラリア及び重要寄生虫症の流行拡散制御に向けた遺伝疫学による革新的技術開発研究プロジェクト」（以下、「プロジェクト」）が保健省下の組織であるマラリア学・寄生虫学・昆虫学センター（CMPE）及びラオス国立パスツール研究所（IPL）をカウンターパート機関として地球規模課題別対応国際科学技術協力（SATREPS）の枠組みで実施されている。

今回実施する中間レビュー調査では、中間地点における国際共同研究全体の進捗や研究成果の創出状況を確認するとともに、政府開発援助（Official Development Assistance：ODA）事業として相手国における人材育成、能力強化及び開発課題に対する貢献の観点からプロジェクトをレビューする。また、レビュー結果に基づき、プロジェクトの運営改善や支援期間内に着実にプロジェクト目標を達成するための提言を行うことを目的として実施された。

１－２　中間レビュー調査の目的

中間レビュー調査の目的は以下に示すとおりである。

① PDM（version 1）（付属資料 Annex 1）に基づいて進捗をレビューし、評価 5 項目（「妥当性」「有効性」「効率性」「インパクト」及び「持続性」）の評価基準に従って中間時点でのプロジェクトの達成度を評価する。
② プロジェクトの成果及び目標に対する促進要因及び阻害要因を検討する。
③ 上記の分析結果に基づいてラオス側と共同で残りのプロジェクト期間での活動方針について協議する。
④ プロジェクト目標が協力期間内に達成できるよう提言を行うとともに、必要に応じて PDM の見直しを行う。
⑤ 中間レビュー調査報告書に調査結果を取りまとめる。

１－３　中間レビュー調査団のメンバー

中間レビュー調査は、JICA 側 3 名のレビュー委員がラオス側関係機関と協議しながら合同で実施した。中間レビュー調査チームの構成は以下のとおりである。

なお、ラオスでの現地調査には、SATREPS の枠組みの中で日本国内の研究を支援している国立研究開発法人日本医療研究開発機構（Japan Agency for Medical Research and Development：

AMED)[1]はJICAの実施する終了時評価調査と同時に2名の調査団をラオスにおける現地調査に派遣し、独自の中間評価調査を行うとともに、専門的見地から研究活動に対する技術的な助言を行った。

表１－１　中間レビュー調査団のメンバー（日本側）

担　当	氏　名	所　属	現地派遣期間
団長・総括	金井　要	JICA 人間開発部 技術審議役	2016 年 12 月 10 日 –2016 年 12 月 17 日
協力企画	藤田　恵里	JICA 人間開発部保健第二グループ保健第四チーム 職員	2016 年 12 月 10 日 –2016 年 12 月 17 日
評価分析	井上　洋一	株式会社日本開発サービス　調査部　主任研究員	2016 年 11 月 27 日 –2016 年 12 月 17 日

表１－２　中間レビュー調査団のメンバー（AMED 団員）

担　当	氏　名	所　属	全体調査期間
感染症対策研究	北　潔	AMED 国際事業部　医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業 プログラムオフィサー 長崎大学大学院　熱帯医学・グローバルヘルス研究科　研究科長　教授	2016 年 12 月 12 日 –2016 年 12 月 15 日
計画・評価	石井　克美	AMED 国際事業部国際連携研究課　主幹	2016 年 12 月 10 日 –2016 年 12 月 16 日

現地調査は2016年11月27日から2016年12月16日に実施し、サイト視察、インタビュー、プロジェクト報告書等の関連文書レビューを実施した（付属資料 Annex 2）。

１－４　プロジェクトの枠組み

プロジェクトの枠組みを以下に示す。

① プロジェクト期間：2014年5月1日から2019年4月30日まで5年間

② プロジェクト管理：本プロジェクトの管理体制は以下の通りである。

・プロジェクト・ダイレクター：CMPE センター長

・プロジェクト・マネージャー：IPL[2]　所長

・チーフ・アドバイザー：NCGM 研究所 熱帯医学・マラリア研究部　部長・教授

③ プロジェクト実施機関：ラオス側及び日本側研究機関を以下に示す。

・ラオス側：IPL

・日本側：NCGM、東京大学、琉球大学、順天堂大学、東京医科歯科大学

[1] SATREPS 感染症分野プロジェクトの所掌事務及び権限は、2015年4月1日より国立研究開発法人科学技術振興機構（Japan Science and Technology Agency：JST）から AMED に移管された。

[2] IPL は2007年に発効された首相令により、ラオスの国立研究所に位置付けられている。

④　裨益対象者：本プロジェクトの直接的、間接的な裨益対象者は、それぞれラオスのマラリア及び他の寄生虫病の遺伝疫学による革新的研究技術開発にかかわる研究者及び保健行政官（約 20 名）、対象地域の住民（約 400 万人）である。

⑤　プロジェクトの要約：最新 PDM である version 1〔2015 年 2 月 25 日、第 1 回合同調整委員会（Joint Coordinating Committee：JCC）で承認〕に示されるプロジェクトの要約（プロジェクト目標、成果、活動）を表１－３に示す。指標、入手手段、双方のプロジェクトへの投入、前提条件、外部条件等のその他の項目は、付属資料 Annex 1 として添付された PDM version 1 を参照のこと。

表１－３　プロジェクトの要約

プロジェクト目標	開発されたマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の遺伝疫学的診断方法に基づく研究成果が疾病対策等の行政サービスに反映される。
成　果	成果 1 マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の、より簡便で精度の高い診断法（PCR 法・LAMP 法等）が開発・普及される。 成果 2 マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の病原体とベクター（媒介者）の集団としての遺伝子構造の時空間的変化がモニタリングされる。 成果 3 薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズムが分析される。 成果 4 開発された診断方法によるマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症のサーベイランスに基づき、地域の行政機関とともに住民教育が強化され、流行の監視が実施される。 成果 5 ラオスの研究者及び行政官のマラリア・寄生虫感染対策に関する能力が強化される。
活　動	活動 1 1-1　IPL の研究環境を整備する。 1-2-1　患者の検出と原虫（血液）/ 虫卵（糞便）の採取方法を改善する。 1-2-2　活動 1-2-1 で得られた検体より、虫体の分離と DNA の抽出を行う。 1-3-1　メコン住血吸虫媒介貝（中間宿主）、タイ肝吸虫媒介貝（第一中間宿主）、媒介淡水魚（第二中間宿主）を採取する。 1-3-2　メコン住血吸虫媒介貝（中間宿主）、タイ肝吸虫媒介貝（第一中間宿主）、媒介淡水魚（第二中間宿主）からの虫体の分離と DNA の抽出を行う。 1-4　それぞれの病原体の遺伝子に特異的なプライマーを設計し、PCR 法・LAMP 法の遺伝子増幅条件を確定する。 1-5　開発できた技術について学会発表、論文発表、知財等を通じて報告を行う。 活動 2 2-1　保健省が所有している（マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に関する）既存データを収集、分析する。 2-2　対象地域内の県、郡それぞれについてデータ収集システムを評価する。

	2-3-1 分子系統解析の手法を活用して、収集した寄生虫の集団遺伝学的分析を行う。 2-3-2 マイクロサテライトマーカーを用いた eBURST diagram[3] を経時的に作成する。 2-3-3 クラスター解析[4] による病原体の集団構造の変化を分析する。 2-4-1 得られた科学的根拠をもって分子疫学的に流行の決定因子や拡散因子を解明し、報告・発表を行う。 2-4-2 ラオスで新興してきているヒト *Plasmodium knowlesi*（サルマラリア）感染の遺伝疫学的調査を実施する。 2-4-3（マラリア）流行地域の住民のグルコース－ 6 －リン酸デヒドロゲナーゼ（Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase：G6PD）欠損症の分析に株式会社 同仁科学研究所のキットを適用する。 活動 3 3-1 クロロキン耐性責任遺伝子 *pfcrt* 及びアルテミシニン耐性責任遺伝子 *K13* の変異とそのアミノ酸の配列、並びに同遺伝子の近傍マイクロサテライトマーカーの変異を解析する。 3-2 既報の多剤耐性責任遺伝子の変異の分布を解析し、ラオスに特有な多剤耐性遺伝子変異の分布状況を解明する。 3-3 アルテミシニン耐性のメカニズム解明のため、マーカー遺伝子を探索し、その機能の解明を行う。 活動 4 4-1 上記、活動 1 で開発された PCR 法・LAMP 法をフィールドステーションに導入し、既存の顕微鏡による検査法との比較を行う。 4-2 上記検査方法に基づき、適切な対応と治療に関し、保健省に対し助言を行う。 4-3 感染予防のための社会的アプローチを考察し、住民への教育活動を提案する。 活動 5 5-1 共同研究計画に沿って、IPL の研究員に研究指導を行い、共同研究を行う。 5-2 ラオス人研究員を NCGM に招へいし、共同研究を行う。 5-3 ラオスにおいてラオス人研究者・技術者に対し、基礎生物学から最先端の分子遺伝疫学に関するシリーズ化した研修を提供する。 5-4 CMPE を中心とする保健省行政官に対し保健政策及び戦略策定の能力強化を図る研修を企画・実施する。 5-5 ラオス全国保健研究フォーラム（Laos National Health Research Forum：LNHRF）で、研究結果等を発信するためのワークショップを開催する。

[3] eBURST diagram とは、複数座位の分子マーカー（DNA の単塩基置換やマイクロサテライト DNA など）に基づく遺伝子型について、それらの集団間の進化的な由来（系統）を示す図である。

[4] クラスター解析とは、複数座位の分子マーカーを用いて遺伝的な集団構造を推定する解析手法である。

第２章　中間レビュー調査の方法

２－１　SATREPS におけるプロジェクトレビューの枠組みについて

SATREPS は JICA による現地での技術協力プロジェクト実施協力と AMED による日本国内での技術的・財政的研究支援が連携して推進されることから、評価活動実施の効率性もかんがみ、現地調査を JICA と AMED が連携、協力して実施される。

JICA はプロジェクト運営の一環として、政府関係者・研究代表者を含めた先方協力機関等と共同で、ODA 事業として相手国における人材育成、能力強化及び開発課題に対する貢献の観点から評価（レビュー）を実施する。また、AMED は地球規模課題の解決に資する研究成果、科学技術水準の向上の観点から日本国内及び相手国を含めた国際共同研究全体の評価を行う。

２－２　レビュー手法

中間レビュー調査は「JICA 事業評価ガイドライン第 2 版」（2014 年 5 月）及び「JICA 事業評価ハンドブック（Ver.1)」（2015 年 8 月）に沿って実施された。実績・実施プロセスの確認と 5 項目評価を行うための具体的な方法を検討するため、評価設問、必要な情報・データ、情報源、データ収集方法について一覧表で示した評価グリッド（付属資料 Annex 3）を作成した。

レビュー・チームのメンバーは評価グリッドに基づき、カウンターパート研究者や各関係機関、JICA 専門家に対して質問票やインタビューを実施し、プロジェクトのレビューを実施した（主要面談者は付属資料 Annex 4「主要面談者リスト」を参照)。

プロジェクト・サイクル・マネジメント（Project Cycle Management：PCM）の常法に則り、最新の PDM version 1 に基づいて指標の達成度を含めたプロジェクト実績を確認し、評価 5 項目での評価分析を行った。中間レビュー・チームは、評価結果を中間レビュー調査報告書に取りまとめた。

２－３　評価 5 項目

本中間レビュー調査に用いた評価 5 項目の概説を表２－１に示す。

表２－１　評価 5 項目の概説

評価 5 項目	概　説
妥当性	プロジェクトの目標（PDM のプロジェクト目標、上位目標）が、受益者のニーズと合致しているか、援助国側の政策と日本の援助政策との整合性はあるかといった、「援助プロジェクトの正当性」を検討する。中間レビュー調査での妥当性評価は、現状・実績に基づいて検証作業を行う。
有効性	PDM の「プロジェクトの成果」の達成度合いと、それが「プロジェクト目標」の達成にどの程度結びついたかを検討する。中間レビュー調査での有効性評価は、現状・実績に基づいて検証作業を行う。
効率性	プロジェクトの「投入」から生み出される「成果」の程度を把握する。各投入のタイミング、量、質の適切度を検討する。中間レビュー調査での効率性評価は、現状・実績に基づいて検証作業を行う。

インパクト	プロジェクトが実施されたことにより生じる直接・間接的な正負の影響を検討する。中間レビュー調査でのインパクト評価は、評価の必要性・可能性に応じて検証作業を行う。
持続性	援助が終了した後も、プロジェクト実施による便益が持続されるかどうか、自立発展に必要な要素を見極めつつ、プロジェクト終了後の自立発展の見通しを検討する。中間レビュー調査での自立発展性評価は、予測・見込みに基づいて検証作業を行う。

第3章　プロジェクトの実績と実施プロセス

３－１　投入

３－１－１　日本側投入実績

表３－１に、2016 年 11 月時点のプロジェクトに対する日本側からの投入を示す。詳細は付属資料 Annex 5 を参照のこと。

表３－１　日本側投入実績

構　成	投　入
日本人専門家の派遣	長期専門家：合計 3 名（寄生虫学:1 名、業務調整：延べ 2 名）、57 人･月 短期専門家：延べ 46 名、10 人・月
資機材の提供	内容：DNA シークエンサー、電気泳動ゲル撮影装置、マルチガスインキュベーター、分光光度計、超低温フリーザー、自動電気泳動装置、リアルタイム PCR システムなど（合計 6,733 万 6,067 円）
カウンターパート研究者の来日	合計人数：延べ 6 名 協議内容：研究成果の共有や研究計画の協議等（合計 36 日間）
本邦研修	合計人数：2 名 研修内容：・マラリアの診断技術、薬剤耐性試験、遺伝子解析に関する本邦研修（1 名、NCGM 研究所、1 カ月） ・ラオスのマラリアに関する疫学研究（1 名､琉球大学､3 年）
現地活動費	在外事業強化費：4,641 万 8,020 円 ・2014 年度：877 万 9,000 円 ・2015 年度：1,964 万 4,000 円 ・2016 年度：1,799 万 5,020 円（見込み額）

３－１－２　ラオス側投入実績

表３－２に、2016 年 11 月時点のプロジェクトに対するラオス側からの投入を示す。詳細は付属資料 Annex 5 を参照のこと。

表３－２　ラオス側投入実績

構　成	投　入
カウンターパート配置	合計 20 名 1. 保健省：9 名 2. CMPE：2 名 3. IPL：6 名 4. NIOPH：3 名

施設及び資機材	1. カウンターパートの配置：プロジェクト・ダイレクター（保健省 1 名）、プロジェクト・マネージャー（IPL 所長 1 名）、マラリア・メコン住血吸虫症・タイ肝吸虫症に従事する IPL 研究者及びスタッフ、県 CMPE の職員 2. 施設・土地：IPL における研究スペース及び事務スペース 3. 機材：IPL 及び県 CMPE における既存の研究機器 4. その他：保健省及び IPL が保有する研究関連情報、データ及び標本
現地活動費	プロジェクト事務所水道光熱費、コストシェアリングによる、機材保守管理等にかかる JICA 負担分以外の IPL 負担分の合計額：USD 7 万 5,915（約 LAK 5 億 9,794 万 9,133 ≒ 795 万 2,723 円）[5]

３－２　プロジェクトの実績

３－２－１　プロジェクト活動の実績

成果に係るプロジェクト活動実績を以下に示す。

表３－３　成果１　活動実績

成果 1：マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症[6] の、より簡便で精度の高い診断法（PCR 法・LAMP 法等）が開発・普及される。	
活　動	達　成　事　項
1-1. IPL の研究環境を整備する。	・2015 年 2 月までに IPL の寄生虫学研究室（ラオス–日本共同研究室）及び本プロジェクトで使用する実験室に R/D の供与機材リストに記載したすべての機材が導入された。なお、停電対策、並びにスパイクノイズ対策として DNA シークエンサーと PCR 機に UPS（無停電電源装置）を設置した。 ・プロジェクト長期専門家が着任して以降、既存の機器等を活用して検体収集や DNA 診断等の作業は直ちに開始された。 ・またプロジェクト車輌も調達し、2016 年 8 月からフィールド調査に活用している。プロジェクト車輌購入前や 2 台以上必要な場合は、レンタカーを使用している。 ・寄生虫学研究室（ラオス–日本共同研究室）の空調システムの機能（温度管理、気圧管理）が不十分であったため、2015 年 3 月にプロジェクト予算で改修工事を行った。 ・在ラオス米国大使館からの援助で、病原体管理システム（Pathogen Asset Control System: PACS）が 2015 年 8 月末に IPL に導入された。IPL で活動する研究者全員が研修、並びにフォローアップ研修を受け、プロジェクトで収集した検体を含む IPL が所持するすべての生物検体情報が一元的に管理されている。

[5] 2016 年 11 月時点の JICA 換算レートを用いて計算した。

[6] これらの病原体の生活環は付属資料 Annex 6 を参照。

	・以上のことより、本プロジェクトで実施する研究活動を行う上で必要な研究環境はほぼ中間レビューまでに整備されたといえる。 ・今後の課題として、寄生虫学研究室（ラオス–日本共同研究室）ラボ、並びに本プロジェクトで使用する実験室で雨漏りが生じているので、早急に対処する必要がある。
1-2-1. 患者の検出と原虫（血液）/ 虫卵（糞便）の採取方法を改善する。	・2014 年 6 月から 2016 年 11 月 4 日までに、IPL、CMPE、並びに各県保健局（Provincial Health Offices：PHOs）とともに計 15 回のフィールド調査（マラリア調査もしくはメコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症調査）を行い、調査参加者（生徒・住民）から検体（血液・糞便）を採取した。また、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症については、中間宿主生物の採取も行った。さらに、IPL 医用昆虫学・疾病媒介生物学研究室（ラオス–フランス共同研究室 2）と共同でマラリア媒介蚊の採取、分析を共同で行った。 ・マラリアが多いラオス南部の 5 県（サワナケット、サラワン、チャンパサック、セコン、アタプー）の県病院、並びに患者数が特に多い 16 郡の郡病院と保健センター、対象とした県、郡の SMPE、合計 156 名の職員を研修し、医療施設を訪れたマラリア疑い患者血液検体を、専用のろ紙（filter papers）に採取する方法を 2015 年 6 月から導入した。 ・プロジェクトが行うフィールド調査のみでは解析を行うためのマラリア陽性検体数が十分でなかった。また、フィールド調査を県や郡の担当者と実施した際にマラリアを含む寄生虫症に関する診断や調査等の能力強化の必要性が示唆されたが、以上のことによって、広範囲かつ経時的にマラリア流行地域からマラリア血液検体及び付随する患者情報を収集できる体制を確立したとともに、能力強化にも貢献した。 ・2016 年 11 月時点でフィールド調査、並びに医療施設でのサンプリングで、合計 1 万 8,976 名のマラリア疑い患者から血液検体を採取した。なお、2015 年の CMPE のデータによると、ラオスの全マラリア患者数の 94%を南部 5 県が占めていた。 ・2016 年 11 月時点で、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の流行地域〔それぞれ、チャンパサック県（南部）、カムアン県（中部）及びチャンパサック県〕の調査で、合計 1,861 名の住民から糞便検体を採取した。 ・また、保健省伝染性疾患対策局（Department of Communicable Diseases Control：DCDC）、CMPE とプロジェクト（JICA 専門家＋ IPL スタッフ）が 2016 年 9 月から 10 月にかけてチャンパサック県で行ったメコン住血吸虫症合同調査では、1,754 名の住民から採血を行い、今後、ELISA 法でメコン住血吸虫抗体陽性者の有無を検査し、流行状況を明らかにする予定である。この住血吸虫症調査はラオスのメコン住血吸虫症根絶に向け、WHO のイニシアチブの下、保健省と本プロジェクト（JICA 専門家及び IPL 研究者）が一丸となって取り組んでいる活動である。

1-2-2. 活動 1-2-1 で得られた検体より、虫体の分離と DNA の抽出を行う。	・2016 年 2 月までの調査で採取したマラリア疑い患者及びマラリア流行地域住民から採取した 1 万 8,976 検体のうち 6,541 検体の DNA 抽出が IPL で実施された。今後も検体の追加と平行して DNA 抽出を行う予定であるが、検体数が非常に多いため、一部の検体は IPL－NCGM 間の物質移動合意書（Material Transfer Agreement：MTA）に基づいて NCGM で解析を行っている。 ・チャンパサック県のメコン住血吸虫症、並びにタイ肝吸虫症の調査で採取した糞便 943 検体は、IPL－東京医科歯科大学間の MTA に基づいて東京医科歯科大学に移送し DNA 抽出を実施、中間レビュー時点で完了している。なお、糞便検体からの DNA 抽出条件の検討も東京医科歯科大学で実施している（活動 1-4 参照）。
1-3-1. メコン住血吸虫媒介貝（中間宿主）、タイ肝吸虫媒介貝（第一中間宿主）、媒介淡水魚（第二中間宿主）を採取する。	・2016 年 11 月時点で、チャンパサック県コーン郡での 2015 年 4 月の調査でメコン住血吸虫媒介貝（*Neotricula aperta*）を 1,975 匹、2016 年 4 月の調査で 3,115 匹採取した。 ・*N. aperta* にはα、β、γの 3 種類があるが、2015 年 4 月に採取した媒介貝から DNA を抽出し、分子系統解析を行った結果、採取した *N. aperta* はガンマ株（gamma strain）のみであることが明らかになった。 ・タイ肝吸虫媒介貝（第一中間宿主）（*Bithynia siamensis*）は中間レビュー調査時点では採取を行っていないが、2017 年以降にカムアン県及びチャンパサック県で採取、感染の有無を顕微鏡下で観察すると同時に DNA 抽出を行い、感染の有無や *B. siamensis* の種の同定を実施する予定である。 ・タイ肝吸虫媒介淡水魚（第二中間宿主）は 2016 年 6 月にカムアン県ニョンマラート郡の市場で 10 匹購入し、そのうち 5 匹のウロコからタイ肝吸虫様のメタセルカリア（被嚢幼虫）を採取した。
1-3-2. メコン住血吸虫媒介貝（中間宿主）、タイ肝吸虫媒介貝（第一中間宿主）、媒介淡水魚（第二中間宿主）からの虫体の分離と虫体 DNA の抽出を行う。	＜メコン住血吸虫症について＞ ・東京医科歯科大学主導でメコン住血吸虫 DNA の抽出法を開発した。活動 1-3-1 で示したプロジェクトで採取した媒介貝合計 5,090 匹は IPL と東京医科歯科大学の MTA の下で東京医科歯科大学に移送し、中間レビュー調査までにメコン住血吸虫症 DNA 抽出作業を東京医科歯科大学ですべて完了している。なお、同症媒介貝からメコン住血吸虫の分離は研究実施内容に照らした場合、現時点では必要性がない。 ＜タイ肝吸虫症について＞ ・同様に、東京医科歯科大学において従来法（アルカリ−ボイル法）でメタセルカリアよりも堅い虫卵から DNA 抽出が可能であることを確認し、同法を東京大学の大学院生が技術習得し、IPL で DNA 抽出系を確立した。同法を用いて 2016 年 6 月に活動 1-3-1 で示した媒介淡水魚のウロコから採取したタイ肝吸虫様メタセルカリアから DNA の抽出を行った。また、タイ肝吸虫症対策に向けて社会学的研究アプローチ（Positive Deviance）による調査検討を東京大学、保健省（DCDC 及び CMPE）主導の下で県、郡の保健局と協力して実施しており（詳細は活動 4-3 を参照のこと）、流行地域の家庭で使用されているまな板の付着物から DNA の抽出を実施した。なお、タイ肝吸

	虫媒介貝（第一中間宿主）（*B. siamensis*）の採取と DNA 抽出は中間レビュー調査以降に実施する予定である。
1-4. それぞれの病原体の遺伝子に特異的なプライマーを設計し、PCR 法・LAMP 法の遺伝子増幅条件を確定する。	＜マラリアについて＞ ・マラリアに関して、NCGM にてミトコンドリアゲノムの *cox1* 遺伝子を標的とした種同定に有効な PCR 法のプライマー設計、並びに PCR 法の反応条件を確定した。 ・マラリア DNA 検出のための LAMP 法に関しては、栄研化学株式会社が開発した「Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit」（DNA 抽出キット及び検出機器も含む）を CMPE、県保健局（ルアンパバーン、サバナケット、チャンパサック）に導入した。 ＜メコン住血吸虫症について＞ ・メコン住血吸虫に関しては、東京医科歯科大学が糞便検体からの DNA 抽出条件の確定、ミトコンドリアゲノムの *cox1* 遺伝子を標的とした LAMP 法のプライマー設計、並びに LAMP 法の反応条件を確定し、メコン住血吸虫 DNA 検出法として確立した。従来の糞便検体を用いた Kato-Katz 法による顕微鏡検査での陽性率は 0.36％（1/274）であったのに対し、本プロジェクトで開発した LAMP 法による陽性率は 2.92％（8/274）であった。したがって本 LAMP 法の検出感度は従来の顕微鏡検査法より 8 倍高いといえる。 ・なお、上記検出法を用いて、チャンパサック県コーン郡から採取した *N. aperta* からメコン住血吸虫 DNA を調査したところ、2016 年 4 月の調査で採取した 3,115 匹の貝のメコン住血吸虫感染率は少なくとも 0.5％以上であることが推定された。なお、本調査で明らかとなった *N. aperta* のメコン住血吸虫感染率は 2016 年 10 月に開催された LNHRT で報告されている。 ＜タイ肝吸虫症について＞ ・タイ肝吸虫に関しては、東京医科歯科大学にて糞便検体からの DNA 抽出条件の検討、ミトコンドリアゲノムの *cox1* 遺伝子を標的とした LAMP 法のプライマー設計、並びに LAMP 法の反応条件を検討した。その結果、顕微鏡検査の陽性率が 76.5％で、LAMP 法の陽性率が顕微鏡検査を大きく下回る 47.6％であった。この原因として DNA 抽出の条件、あるいは LAMP 法のプライマー配列が適切でない可能性が考えられた。また顕微鏡検査でタイ肝吸虫と診断された検体の中に、タイ肝吸虫卵と類似した他の寄生虫卵が多く混入している可能性も考えられている。中間レビュー調査以降は、これら原因を踏まえ、更に条件検討を行うことを予定している。 ・なお、現在開発を進めている上記 LAMP 法を用いて 2016 年 6 月に、タイ肝吸虫症流行地域であるカムアン県ニョンマラート郡の市場で購入したタイ肝吸虫媒介淡水魚のウロコ[7]から採取したタイ肝吸虫

[7] なお、タイマヒドン大学研究者から、タイ肝吸虫は媒介魚のウロコには寄生せず、筋肉や尾びれ等に寄生しているとの情報を得た。

	様のメタセルカリア（被嚢幼虫）からタイ肝吸虫 DNA の検出を試みたが、結果は陰性であった。また 2016 年 6 月に、同地域で 62 世帯の台所にあるまな板表面の付着物からタイ肝吸虫 DNA 検出を試みたが、結果はすべて陰性であった。 ・今後は、LAMP 法による検出法の改良と平行して、媒介貝や媒介淡水魚の他の部位（特に筋肉）からのタイ肝吸虫 DNA の検出を試みる予定である。また、まな板にタイ肝吸虫メタセルカリアが付着するかを確認するために、タイ肝吸虫感染淡水魚を実験室のまな板で解剖し、その直後のまな板表面の付着物から、LAMP 法にてタイ肝吸虫 DNA の検出を試みる予定である。
1-5. 開発できた技術について学会発表、論文発表、知財等を通じて報告を行う。	・プロジェクトで開発を行ったメコン住血吸虫及びタイ肝吸虫 DNA 検出法について、日本国内では日本寄生虫学会や蠕虫研究会、ラオス国内では LNHRF で発表した。 ・これらの結果について、中間レビュー調査時点で国際学術雑誌への投稿原稿を作成中である。

表３－４　成果 2　活動実績

成果 2：マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の病原体とベクター（媒介者）の集団としての遺伝子構造の時空間的変化がモニタリングされる。	
活　動	達　成　事　項
2-1. 保健省が所有している（マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に関する）既存データを収集、分析する。	＜マラリアについて＞ ・保健省が所有している県別、郡別の患者報告数、並びに死亡者数データの提供を常時受けられる協力関係が CMPE と IPL 寄生虫病研究室との間で構築されている。 ・それらのデータを分析した結果、熱帯熱マラリアの占める割合が年々減少し、三日熱マラリアの占める割合が増加していることが明らかとなった。例えば 2009 年は熱帯熱マラリアが 99%、三日熱マラリアが 1 %だったのに対し、2012 年は熱帯熱マラリアが 83%、三日熱マラリアが 17%、2015 年は熱帯熱マラリアが 40%、三日熱マラリアが 58%、混合感染が 2%だった。 ・ただし、この傾向は熱帯熱マラリアの治療に非常に効果的なアルテミシニン合剤（アルテミシニン＋ルメファントリン）の導入によって熱帯熱マラリア患者数の減少に伴い、三日熱マラリア患者の割合が相対的に増加したように見える可能性がある。とはいえ、三日熱マラリアの絶対数もラオスで 2011 年に三日熱マラリア迅速診断キットが導入されたことによって診断が適切に実施されるようになったことや、熱帯熱マラリアの減少による宿主（ヒトや蚊）内の競争が低下したことが推察され、実際に三日熱マラリア感染者数は増加傾向にある。

	＜メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について＞ ・メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症に関しては、保健省がこれらの疾患情報を収集するメカニズムがなく、直接的に所有しているデータが非常に少ないことがプロジェクト開始後に明らかとなった。しかしながら、NIOPH のチームが研究として調査・収集したデータが信頼できるデータであることが明らかとなった。同研究所と NCGM や琉球大学などの日本の研究機関とはプロジェクト開始以前から共同研究を実施しており、これらの寄生虫症の情報についてプロジェクトとして情報共有を受けている。なお、2015 年 8 月からは本プロジェクトのカウンターパート機関と正式に位置付けられた。 ・また、2016 年から WHO のイニシアチブの下、メコン住血吸虫症根絶に向け WHO と保健省（DCDC 及び CMPE）が一丸となって対策を実行中である。その中で、2016 年 5 月 7 日の保健省と WHO の共同主催の対策会議で、IPL 寄生虫病研究室と NIOPH のチームが保健省に対してプロジェクトで得たデータに基づき、流行状況モニタリングの実施に関して、調査地、調査方法、並びに検査方法に関する技術的な助言を行った。同会議で決定した調査手順に従って、2016 年 9 月から 10 月にかけて、保健省と IPL 寄生虫病研究室が合同で調査を実施した。この調査は年末に行われるプラジカンテルによる集団駆虫前の感染状況調査であり、この合同調査は上記会議でプロジェクトの技術的助言で確定したモニタリング手法に基づいて 2017 年以降も実施される予定である。
2-2. 対象地域内の県、郡それぞれについてデータ収集システムを評価する。	＜マラリアについて＞ ・マラリア患者情報の報告は保健省が管理する保健情報システムの一部として確立されている。具体的には、月に 1 回、保健センターから郡保健局へ、郡保健局から県保健局へ、県保健局から中央へ報告することになっている。このうち県保健局から中央へは電子データ（ウェブベースあるいは E －メール）で報告できるようになってきたが、保健センターから郡保健局へ、郡保健局から県保健局へは、紙ベースで届けることになっているため、季節や医療施設の条件等により報告値の信頼性に問題が生じている可能性も示唆されている。 ＜メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について＞ ・活動 2-1 で示した通り、メコン住血吸虫症とタイ肝吸虫症に関しては保健省がこれらの疾患情報を収集するメカニズムがなく、直接的に所有しているデータが非常に少なく、かつ、信頼性も十分担保されていない。唯一信頼できる既存情報としては、NIOPH が研究ベースで収集した情報である。 ・プロジェクトでは、NIOPH のデータに基づいて研究対象サイトを選定している。

<table>
<tr><td>2-3-1. 分子系統解析の手法を活用して、収集した寄生虫の集団遺伝学的分析を行う。

2-3-2. マイクロサテライトマーカーを用いた eBURST diagram を経時的に作成する。

2-3-3. クラスター解析による病原体の集団構造の変化を分析する。</td><td>＜活動 2-3 の目的について＞
・活動 2-3 では、病原体とベクターの集団としての遺伝子構造の時空間的変化を明らかにするために、①分子系統解析、② eBURST 解析、③クラスター解析、④必要に応じて他の解析手法などを行う。
・このように遺伝子構造の時空間的な変化が明らかとなることによって、流行状況の把握や今後の流行の傾向分析が可能となり、さらに集団の遺伝的多様性を評価することによって対策の効果判定や他地域からの病原体の流入を評価することが可能となる。
＜マラリアについて＞
・マラリアに関してはプロジェクト開始から現在に至るまで、主に検体の効率的な収集方法の確立を行っており、中間レビュー調査時点では熱帯熱マラリアや三日熱マラリアの流行状況と傾向、無症候性マラリア感染者の実態などの調査を中心に実施しており、上述した 3 つの解析方法を用いた解析は、中間レビュー調査以降に本格的に実施される予定である。
＜メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について＞
・メコン住血吸虫症に関しては陽性検体が非常に少なく、これまでのところ、プロジェクトで調査した 943 糞便検体のうち、陽性となったのは顕微鏡検査で 4 例､LAMP 法で 8 例のみであった。したがって、メコン住血吸虫症については、集団遺伝学的分析を行うことが困難であることが強く示唆された。
・タイ肝吸虫症に関しては、LAMP 法による DNA 検出方法の確立を行っている段階であり、その結果に基づく集団遺伝学的分析は中間レビュー調査時点で行っていない。ただし、流行地域でのタイ肝吸虫症感染率は 88%と推定されていることから、集団遺伝学的解析で遺伝構造の時空間的変化の解析を行う意義について、関係者間で検討することの必要性が強く示唆される。</td></tr>
<tr><td>2-4-1. 得られた科学的根拠をもって分子疫学的に流行の決定因子や拡散因子を解明し、報告・発表を行う。</td><td>＜マラリアについて＞
・本プロジェクトで行っているマラリア調査研究の結果、特に三日熱マラリア原虫の無症候性キャリアが予想以上に多いことが明らかとなった。具体的には、従来の顕微鏡検査や免疫クロマトグラフ法に基づく迅速診断テスト（Rapid Diagnostic Test：RDT）では陰性と診断される検体の中に、遺伝子診断技術（PCR 法、LAMP 法）を用いると陽性と診断される検体が多数検出された。具体的な無症候性キャリアの関する解析結果は以下のとおりである。
- 2013 年 8 月から 9 月にサバナケット県で 778 名の住民を調査したところ、RDT で 17 名陽性であったが、PCR 法で 48 名が陽性を示した。また、本調査から、家族ごとにマラリア原虫感染者が集積している傾向が観察された。
- 2015 年 5 月にアッタプー県で 381 名の住民を調べた結果、顕微鏡検査で 3 名陽性、RDT で 5 名陽性であったのに対し、PCR 法では 42 名が陽性であった（熱帯熱マラリア陽性 5 名、三日熱マラリア陽性 37 名）。しかもそれらはすべて無症候性キャリア（体温の平均</td></tr>
</table>

	36.7℃）であった。また、女性に比較して男性に感染者が有意に多いことが明らかとなった（男性 36 名、女性 6 名）。 - 2016 年 2 月にチャンパサック県で 694 名の住民を調べた結果、RDT で 30 名陽性に対し、PCR 法では 85 名が陽性であった（熱帯熱マラリア陽性が 23 名、三日熱マラリア陽性が 54 名、混合感染が 8 名）。また、上記の結果と同様に陽性者は無症候性キャリアであった。また、感染者は主に成人男性であった。 - 以上のことから、① PCR による遺伝子検出法は顕微鏡検査や免疫クロマトグラフ法に基づく迅速診断法に比較して検出感度が顕著に高いこと、②感染者のうち約 80％が無症候性キャリアであったこと、③感染者の多くは成人男性であることから、木材の伐採などにより森林に長時間滞在することで蚊の吸血機会が高くなるような行動様式を示す場合に、感染リスクが高まっていることが推察され、④しかも彼らは無症候性キャリアであることから治療を受けることなく、マラリア原虫の保有者（リザーバー）としてマラリア原虫の拡散に寄与することが推察されることから、無症候性キャリアがラオスのマラリア対策上大きな課題であることが明らかとなった。 ・これらの研究結果は常に保健省と共有している。また 2013 年のサバナケット県の調査結果は、2016 年に国際学術雑誌[8]に発表している。 ＜メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について＞ ・メコン住血吸虫症に関しては、2016 年 4 月のチャンパサック県コーン郡での調査で、媒介貝の生息地 6 カ所を特定し、そのうち 3 カ所でメコン住血吸虫に感染した媒介貝を確認した。この結果は、2016 年 9 月から 10 月に実施した保健省との合同調査の時に、近隣住民にフィードバックした。 ・タイ肝吸虫症については、感染した淡水魚を生で食するという感染の決定因子が明らかとなっている。流行地域で実施した疫学調査では、年に 1 回のプラジカンテルによる集団駆虫が実施されている地域であっても、後に実施した顕微鏡検査の結果で 88％が陽性であったとの報告もあることから、拡散因子の検討を行う必要性は議論の余地がある。 ・上記の通り、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の決定因子及び拡散因子を「分子疫学的に」解明することは困難であると考えられる。

[8] Pronouns T. et al. *Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR*. Malar J. 2016;15:508.

2-4-2. ラオスで新興してきているヒト *Plasmodium knowlesi*（サルマラリア）感染の遺伝疫学的調査を実施する。	・一般的に確認されているヒトに感染するマラリア原虫は熱帯熱、三日熱、四日熱、卵形の 4 種類であるが、近年東南アジア地域でサル（オナガザル科）マラリア原虫（*Plasmodium knowlesi*）のヒト感染例が報告されており、かつ、死亡例も確認されている。特に近年は森林伐採やエコツーリズム等によってサルマラリア原虫との接触機会が増加していることが推察されることから、ラオスにおいてサルマラリア原虫のヒト感染例を調査する必要性が高い。 ・過去に NCGM で設計したサルマラリア原虫の DNA を増幅するプライマーを用いて、2014 年にサバナケット県で採取した 299 検体について PCR 法によるスクリーニングを行ったが、陽性検体は検出されなかった。中間レビュー調査以降も、すでに採取した他の検体も調査する予定である。なお、2016 年 11 月時点でプロジェクトはマラリア研究のための検体を約 2 万検体保有しており、プロジェクト期間内にすべての検体についてサルマラリアを含むヒト感染性マラリア原虫種の同定を実施する予定である。 ・また、本プロジェクトとは別に日本人研究者らが過去にサバナケット県で実施したマラリア調査から、サルマラリアのヒト感染を示唆する結果を得ている。したがって、上記 2 万検体の解析を行うことにより、ラオス初のサルマラリア原虫のヒト感染症例を本プロジェクトで報告できる可能性がある。
2-4-3.（マラリア）流行地域の住民の G6PD 欠損症の分析に株式会社 同仁科学研究所のキットを適用する。	・活動 2-1 で示した通り、ラオスでは近年、三日熱マラリア感染者数が増加傾向にある。三日熱マラリアにはヒト肝細胞内で休眠するヒプノゾイド（休眠体）があり、通常の抗マラリア薬ではヒプノゾイドを駆除できない。ヒプノゾイドを駆除しない限りは、感染者は再発を繰り返すため、ヒプノゾイドの駆除に効果が確認されているプリマキンの投与が必要となる。しかしながら、プリマキンを G6PD 欠損症[9] の感染者に投与すると重大な有害事象（急性溶血性貧血）が発生する危険性が高まるため、プリマキンを投与する前には G6PD 酵素活性の検査を行うことが望ましい。これまでにラオスで G6PD 欠損症に関する疫学情報が限定的であることから、本プロジェクトで疫学情報を明らかにし、三日熱マラリアの根治療法のガイドライン等を作成する際の根拠となるデータを提示することを目標としている。 ・2016 年 2 月に、チャンパサック県のマラリア流行地域で住民 690 名を対象に、G6PD 欠損症の調査を行った。その結果、62 名（9%）が G6PD 欠損症であった。また欠損症と診断された 62 名の酵素活性はすべて 20%から 60%の範囲内であった。これは WHO の定義で中程度の欠損といえる。また G6PD 欠損症であった検体については、重症度の影響する G6PD 遺伝子変異の解析も実施している。これまで

[9] G6PD 欠損症の定義は、WHO の定義に基づき、G6PD 正常血液の酵素活性を 100%とした場合に 60%以下を欠損症とした。

	の解析で重要な知見として、WHO の重症度分類でクラスⅡ（2 番目に重症度が高い）に分類される Viangchan 型変異 V871M が G6PD 欠損症と診断された 62 検体中の 25 検体から観察されたことが挙げられる。 ・今後は 2016 年 11 月にサバナケット県、2017 年 2 月に北部のポンサリー県で同様の調査を行い、上述したようなガイドラインに活用できる根拠データとして取りまとめる予定である。最終的には保健省や WHO 等の関係機関とガイドライン作成を行うことを念頭に活動を行う。

表３－５　成果 3　活動実績

成果 3：薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズムが分析される。	
活　動	達　成　事　項
3-1. クロロキン耐性責任遺伝子 *pfcrt* 及びアルテミシニン耐性責任遺伝子 *K13* の変異とそのアミノ酸の配列、並びに同遺伝子の近傍マイクロサテライトマーカーの変異を解析する。	＜クロロキン耐性マラリアについて＞ ・NCGM においてクロロキン耐性責任遺伝子 *pfcrt* の変異とそのアミノ酸の配列を調べた結果、2010 年にサバナケット県で採取された熱帯熱マラリア原虫 33 検体中、26 検体（79％）に耐性型変異[10] が観察された。一方、2013 年に同じサバナケット県で採取された熱帯熱マラリア原虫 48 検体中、17 検体（35％）に耐性型変異が観察された。クロロキン耐性熱帯熱マラリアがメコン地域に多いことから、ラオスではクロロキンの使用が禁止されている。クロロキンによる選択圧が減少したことにより、クロロキン感受性型（野生型：wild type）の熱帯熱マラリア原虫が増加してきた可能性が示唆されたが、検体数が少ないので現時点では断定することは困難である。今後は検体数と調査地域を広げて解析を進める予定である。 ・NCGM で、クロロキン耐性責任遺伝子 *pfcrt* 近傍マイクロサテライトマーカーのヘテロ接合性（遺伝的多様性）について、上記のサバナケット県で 2010 年と 2013 年に採取された検体について、それぞれの年の原虫集団を耐性型と感受性型に分けて解析した。その結果、2010 年、2013 年ともに、耐性型原虫集団は、感受性型原虫集団に比べ、遺伝的多様度が低い傾向が観察された。また、2010 年と 2013 年で耐性型原虫、感受性型原虫集団ともに遺伝的多様度に変化は認められなかった。種の遺伝的多様性が損なわれると環境の変化への適応性が低下し、種の絶滅に近づくと考えられる。つまり上記の結果は、耐性型原虫集団はクロロキン抵抗性を手に入れたことの引き替えに、遺伝的には環境変化に対して脆弱となったことを示している。また、このような耐性型原虫集団及び感受性型原虫集団の遺伝的多様度をモニタリングすることにより、マラリア対策全体としての効果の測定に活用できると考えられる。

[10] クロロキン耐性のキーとなる変異は *pfcrt* 遺伝子のコドン 78 番目のアミノ酸が K（リシン）から T（トレオニン）への置換（K78T）である。The key mutation responsible for resistance against chloroquine is the substitution of lysine (K) with threonine on the 78th codon of the *pfcrt* gene

	＜アルテミシニン耐性マラリアについて＞ ・NCGM で、アルテミシニン耐性責任遺伝子 *K13* の変異とそのアミノ酸の配列を調べた結果、2010 年にサバナケット県で採取された熱帯熱マラリア原虫 33 検体に遺伝子変異は観察されなかった。しかし 2013 年に同じサバナケット県で採取された熱帯熱マラリア原虫 47 検体中 3 検体（6%）に変異[11] が観察された。この成果は、2016 年にパスツール研究所国際ネットワークの共同研究の成果として New England Journal of Medicine[12] に発表された。 ・NCGM で、2015 年 10 月から 2016 年 4 月にかけてサバナケット県で採取した 58 検体を調べた結果、2 検体（3%）に、アルテミシニン耐性に寄与する C580Y（コドン 580 番目のアミノ酸がシステインからチロシンに置換）の変異が観察された。 ・他方、同じく 2015 年 10 月から 2016 年 4 月にかけてサラワン県で採取された 142 検体を調べた結果、89 検体（63%）に、C580Y の変異が観察された。 ・サラワン県でのアルテミシニン併用療法（Artemisinin-based Combination Therapy：ACT）による治療効果を今後注意深くモニタリングする必要があると考えられる。
3-2. 既報の多剤耐性責任遺伝子の変異の分布を解析し、ラオスに特有な多剤耐性遺伝子変異の分布状況を解明する。	・活動 3-1 の結果から、サバナケット県ではアルテミシニン耐性責任遺伝子 *K13* について 2010 年の調査では遺伝子変異のない野生型であったが、2013 年には 6%に変異型が観察され、2015 年から 2016 年の調査ではアルテミシニン耐性に寄与する C580Y が 3%に確認された。このことは、*K13* 遺伝子に変異が生じた、あるいは他の流行地域から C580Y の変異を持った原虫集団が流入している可能性を示唆するものである。 ・他方、サバナケット県に隣接するサラワン県で同時期に実施された調査では、サバナケット県の 3%に対し有意に高い 63%の検体で *K13* 遺伝子の C580Y 変異が観察された。このことは、サラワン県では既にアルテミシニン耐性に寄与する *K13* 遺伝子の変異の分布が高度となっていることに加え、南部 4 県の中で分布の程度に大きな地域差があることを示唆するものである。 ・耐性遺伝子変異の流行状況や分布状況の解明にはより詳細な分析を今後継続していく必要があるが、活動 3-1 及び活動 3-2 の結果から、ラオスにおいて薬剤耐性遺伝子変異の能動的サーベイランスを実施する必要があることが強く示唆された。

[11] アルテミシニン耐性を示した 1 検体はコドン 488 番目のアミノ酸がロイシンからメチオニンへ置換（L488M）であったが、残りの 2 検体は DNA の塩基置換のみでアミノ酸置換を伴わない変異（同義置換）〔コドン 467 番目のアミノ酸がグルタミン（CAA）からグルタミン（CAG）〕であった。

[12] Ménard D. et al. for the *K13* Artemisinin Resistance Multicenter Assessment (KARMA) Consortium. *A Worldwide Map of Plasmodium falciparum K13-Propeller Polymorphisms.* N Engl J Med 2016;374:2453-64

	・中間レビュー調査以降はこれらの薬剤の他にも旅行者の予防内服に多く使用されているメフロキンやアトバコン等についても、耐性に関連する遺伝子変異について既存の検体を用いて分析する予定である。
3-3. アルテミシニン耐性のメカニズム解明のため、マーカー遺伝子を探索し、その機能の解明を行う。	・アルテミシニン耐性のメカニズム解明のためのマーカー遺伝子の探索、並びにその機能の解明は、中間レビュー調査以降に実施する予定である。

表３－６　成果４　活動実績

成果 4：開発された診断方法によるマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症のサーベイランスに基づき、地域の行政機関とともに住民教育が強化され、流行の監視が実施される。	
活　動	達　成　事　項
4-1. 上記、活動 1 で開発された PCR 法・LAMP 法をフィールドステーションに導入し、既存の顕微鏡による検査法との比較を行う。	＜マラリアについて＞ ・本プロジェクトで使用されているマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法は栄研化学株式会社が開発した「Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit」（DNA 抽出キット及び検出機器も含む）を使用しており、顕微鏡検査法や免疫クロマトグラフ法よりも感度（sensitivity）が大幅に高いことが確認されている。 ・2016 年 8 月に、IPL に駐在する JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が IPL 寄生虫病研究室スタッフ 4 名に LAMP 法によるマラリア診断に関する研修（理論と実習）を行った。その後、CMPE に LAMP によるマラリア診断の導入を行った。まず CMPE ラボスタッフ 3 名を対象に IPL にて 2 日間の研修（理論と実習）を行い、研修 3 日目に機材を CMPE に設置し再度実習を行った。 ・CMPE への LAMP 法によるマラリア診断法の導入後、2016 年 8 月から 9 月にかけて、ルアンパバーン県、サバナケット県、並びにチャンパサック県の県保健局 SMPE へ、LAMP 法によるマラリア診断法を導入した。導入時の研修はそれぞれ 2 日間行い、ルアンパバーン県では 5 名、サバナケット県では 5 名、チャンパサック県では 3 名のスタッフが研修に参加した。ルアンパバーン県とチャンパサック県での研修時に、マラリア疑い患者に対して従来の顕微鏡検査及び RDT を実施しても陰性を示した検体に、導入した LAMP 法を用いて検査を行ったところ、両県の検体とも LAMP 法によるマラリア診断法でのみが陽性となった。 ・2016 年 9 月、本プロジェクトのチーフ・アドバイザー（JICA 専門家・NCGM 部長）が IPL 寄生虫学研究室スタッフとともにルアンパバーン県保健局 SMPE で運用状況の確認とフォローアップ研修を行った。 ・なお、活動 1-4 で確立したマラリア診断のための PCR 法による DNA 検出法は専用の測定機器やプライマー等の試薬が必要となるため、プロジェクトで行う研究として活用されており、同ステーションへの導入をプロジェクト期間内に検討することは現実的でない。

	＜メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について＞ ・活動 1-4 に示したとおり、プロジェクトは従来の顕微鏡検査法よりも検出感度が約 8 倍高いメコン住血吸虫診断のための LAMP 法による DNA 検出法（the LAMP-based DNA detection method for Schistosomiasis mekongi diagnosis）を開発し、既にプロジェクトの研究に使用されている。ラオスにおけるメコン住血吸虫症の流行はチャンパサック県でのみ確認されている。同県ではマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法が導入されており、技術的にはメコン住血吸虫症診断のための検出法を中間レビュー調査時点でも移転可能である。 ・他方、顕微鏡法による結果の信頼性が十分でないことが疑われていることから、タイ肝吸虫症診断のための LAMP 法による DNA 検出法は従来の顕微鏡検査法と感度と特異度が比較できない状態である。プライマー設計や LAMP 反応条件検討も含めて中間レビュー調査以降も開発作業が継続される見込みである。 ・なお、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症診断のための PCR 法による DNA 検出法開発と県保健局 SMPE への導入は、上述のマラリア診断のための PCR 法による DNA 検出法開発と同様の理由により、プロジェクトでは行わない。
4-2. 上記検査方法に基づき、適切な対応と治療に関し、保健省に対し助言を行う。	＜マラリアについて＞ ・ラオスのマラリア診断・治療ガイドラインでは、マラリア診断には顕微鏡検査、または RDT のみが指定されており、中間レビュー時点では LAMP 法による DNA 検出法で得られた結果は参考情報として利用されている。 ただし、同法は上述の従来法よりも感度が大幅に高いことは明らかであり、保健省や WHO ラオス事務所などの関係機関も認めている。実際に、県保健局の SMPE への LAMP 法による DNA 検出法導入の際には保健省、WHO ラオス事務所と協議の上で導入機関の選定を行った。その結果、同法はマラリア流行地域である中部（サバナケット県）、南部（チャンパサック県）だけでなく、報告例が少ないが国全体をカバーする観点から北部（ルアンパバーン県）にも導入された。これに加え保健省の寄生虫病調査・対策の実施機関である CMPE にも導入されている。 中間レビュー以降も引き続き検査症例数を蓄積して同法の臨床性能を取りまとめ、今後予定されているガイドライン改定時にラオスの公定法として位置付けられるよう取り組みを継続する予定である。 ・他方、活動 3-1 及び活動 3-2 で示したとおり、ラオスのマラリア流行種や耐性遺伝子変異の流行状況が時空間的に明らかになりつつある。中間レビュー調査時点までに得られた知見や研究成果からも、封じ込めに向けた行政対応や効果的な治療法選択に加えて、マラリア原虫リザーバーとしての非症候性感染者の状況をモニターするために能動的サーベイランスの継続的実施の必要性が示唆されている。

	中間レビュー以降はこれらの研究を継続するとともに、予定されているより高度な分析を実施し、最終的な政策提言につなげる予定である。 ＜メコン住血吸虫症症およびタイ肝吸虫症について＞ ・メコン住血吸虫に関しては近年のプラジカンテルによる年 1 回の集団駆虫が奏功し、感染者数は大きく減少している。他方、タイ肝吸虫症は魚の生食を行う文化的な背景もあり、感染率は 88％とする報告もある。 ・したがって、これらの疾患については以下の活動 4-3 で示す社会科学的アプローチを中心に行い、プロジェクトで開発した検査法を用いた科学的研究アプローチが補強する形になると考えられる。
4-3. 感染予防のための社会的アプローチを考察し、住民への教育活動を提案する。	・これまでにプロジェクトで実施したすべてのフィールド調査において、調査に参加した住民に対する調査意図説明や検体提供にかかわる説明と同意（インフォームド・コンセント）取得の機会を活用し、感染予防のための情報提供や助言を行った。 プロジェクトで実施した各対象疾患に対する社会科学的アプローチに関する現状を以下に示す。 ＜マラリアについて＞ ・マラリアの予防に関しては、すでに世界エイズ・結核・マラリア対策基金（Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria：GFATM）の援助により、マラリア流行地域のほぼ全世帯へ LLIN が配布されている。 しかしながら、2015 年 5 月にプロジェクトが実施したフィールド調査（能動的サーベイランス）では 11％の無症候性キャリアを発見し、男性の感染者が女性に比して有意（$p < 0.05$）に高いことが確認された。同年 10 月に医療機関から発熱症状を有する患者の検体を調査したところ、同様に 15 歳から 39 歳の男性に有意（$p < 0.05$）にマラリア陽性者が多いことが確認され、それらの患者情報を調査したところ森林を含む屋外作業機会の多い農業従事者に感染者が多い傾向が観察された。 現在ラオスでは林業等の森林での労働者に感染者が多いと推察されているが、森林労働者には登録されていない（違法の）外国人労働者も一定程度いることが示唆されていることから、実際に森林での労働者のマラリア感染率は明らかではない。 中間レビュー以降は森林労働者に対する感染予防に関する社会科学的アプローチ等に関して保健省、並びに WHO 等の関係機関と議論する予定である。これと平行して、プロジェクトは琉球大学が中心となって登録されていない森林労働者への効果的なアクセス方法に対する snowball sampling の効果について検討を開始している。

	＜メコン住血吸虫症について＞ ・チャンパサック県コーン郡で 2016 年 4 月に行ったメコン住血吸虫症の調査で、メコン住血吸虫感染貝を採取した地点と、メコン住血吸虫 LAMP 法で糞便検体からメコン住血吸虫 DNA が検出された住人の住宅が近い傾向が観察された。チャンパサックでは年に 1 回の集団駆虫により感染率は大きく低下しているが、感染者が自宅近くの川辺で沐浴、洗濯、並びに排泄を行うことで、メコン住血吸虫のライフサイクルが維持され、年 1 回のプラジカンテルによる集団駆虫後に再感染をしているケースがあることが示唆された。 中間レビュー調査以降は、プロジェクトはメコン住血吸虫感染貝の分布状況調査によりリスクマップの作成を行い、住民に対し安全な水場を提示することを計画している。 ＜タイ肝吸虫症について＞ ・2015 年 8 月にプロジェクトが実施したカムアン県で行ったタイ肝吸虫症の調査では、顕微鏡検査で調査対象 687 名中 605 名（88.1%）が陽性であった。同地区でもプラジカンテルによる集団駆虫を行っているが、生魚を食べる食文化により、最終的には多くの住民が再感染していることが明らかとなった。 他方、同年 9 月に東京大学が中心となって実施した調査では、非感染者がいる家庭では感染者の家庭に比較して魚をさばいた後のまな板が衛生的に管理されている傾向が観察され、感染を防ぐ要因（ポジティブ・デビエンス）である可能性が示唆されている。 中間レビュー調査以降はまな板の魚の付着物中にタイ肝吸虫の存在を証明するための試験を行うとともに、プラジカンテルによる集団駆虫後の非感染状態維持に向けたポジティブ・デビエンスの観点からの介入試験も検討している。また、ラオスの食文化を踏まえて感染予防のための健康教育などは継続する必要がある。保健省は教育・スポーツ省と全国的に「学校保健プログラム」を実施していることから、同プログラムを通した特に若年層へのアプローチも検討する予定である。

表３－７　成果 5　活動実績

成果 5：ラオスの研究者及び行政官のマラリア・寄生虫感染対策に関する能力が強化される。	
活　動	達　成　事　項
5-1. 共同研究計画に沿って、IPL の研究員に研究指導を行い、共同研究を行う。	・共同研究計画に沿って、JICA 長期専門家、JICA 短期専門家が IPL 寄生虫病研究室のラオス人スタッフ（NIOPH 併任の研究員 1 名、ジュニア研究員 2 名及び技術補助員 2 名）に対して成果 1 ～ 4 の研究活動を通して研究指導を行っている。 これまでは研究実施体制の構築や収集した膨大な検体の基礎的な処理・分析等が中心であったが、2016 年には IPL スタッフ 2 名が JICA 専門家の指導の下で LNHRF で研究成果の発表を行った。

	中間レビュー調査以降は研究の計画や結果の解釈など研究者能力向上のためのディスカッションの機会を増やしていく予定であり、JICA 専門家の指導の下、英文での抄録や学会発表用スライドの作成、並びに発表練習もより精力的に行う予定である。 ・日本から大学院生も研究メンバーとして本プロジェクトに参画[13]しており、ラオスの若手研究者と日本からの大学院生が互いに刺激を受けながら、ともにフィールド調査や IPL での共同研究を行っている。
5-2. ラオス人研究員を NCGM に招へいし、共同研究を行う。	・これまでにラオス人研究者 3 名を NCGM へ招へいし、研修を兼ねて共同研究を行った。具体的には 2013 年 12 月から 2014 年 2 月に IPL ラオス人技術補助員 1 名、2014 年 5 月に IPL ラオス人ジュニア研究員 1 名、2016 年 2 月に IPL ラオス人技術補助員 1 名が、NCGM で分子寄生虫学に関する研修を行った。また、2017 年 2 月に IPL ラオス人ジュニア研究員 1 名を NCGM に招へいし、研修を兼ねた共同研究を行う予定である。 ・2015 年 10 月から保健省 NIOPH のスタッフ 1 名が、文部科学省の国費留学生として琉球大学修士課程に入学した。本プロジェクトに関連するラオスのマラリア疫学研究で 2017 年 9 月までに修士号取得を目指している。 ・また、2016 年 4 月から CMPE のスタッフ 1 名が、琉球大学へ留学した。2016 年 10 月からは大学院博士課程に進学し、本プロジェクトに関連するラオスのマラリア疫学研究で 2019 年 3 月までに博士号取得を目指している。
5-3. ラオスにおいてラオス人研究者・技術者に対し、基礎生物学から最先端の分子遺伝疫学に関するシリーズ化した研修を提供する。	・2014 年末から 2015 年 9 月にかけて、ビエンチャンにあるフランス熱帯医学院（IFMT）の修士課程の学生 1 名の研究指導を JICA 専門家が行った。2015 年 9 月の卒業後、10 月から IPL 寄生虫学研究室スタッフとなり、本プロジェクトの研究を続けている。 ・2015 年にプロジェクトはラオス南部 4 県（サラワン、チャンパサック、セコン、アタプー）及びサラワン県に隣接するサワナケット県の医療施設（県病院、郡病院、保健センター）から特にマラリア患者報告数が多い 156 の施設を選び、各施設からスタッフ 1 名を対象に寄生虫症の予防・診断・治療に関する講義と実習を行った。また遺伝子診断技術（PCR 法・LAMP 法）の基礎についての講義も行った。 ・2016 年 5 月、JICA 長期専門家が中心となり、IPL 寄生虫学研究室がラオス国立保健科学大学修士課程の学生 5 名に対して寄生虫学、並びに分子生物学研修を 1 カ月間提供した。

[13] JICA による技術協力プロジェクトの枠組みでは、日本の学生が専門家としては位置付けられないが、短期派遣された日本の大学院生は JST または AMED から得られた予算を活用してラオスで活動している。

5-4. CMPE を中心とする保健省行政官に対し保健政策及び戦略策定の能力強化を図る研修を企画・実施する。	・現時点では保健省行政官に対し保健政策及び戦略策定の能力強化を図る研修を企画していない。 マラリア対策、並びにメコン住血吸虫症対策に関しては、保健省の対策会議に JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が IPL の代表として参加し、適宜、本プロジェクトによって得られたデータを提示しながら助言を行っている。 特にマラリア診断に関しては、顕微鏡検査と RDT では検出できない低寄生率の無症候性キャリアが流行地域に一定数存在すること、並びに遺伝子診断技術の重要性を説明し、簡易遺伝子診断技術（LAMP 法）を中央（ビエンチャン）と北部、中部、南部の 3 県に導入することができた。 また、2016 年 1 月に保健省 DCDC と CMPE によって発表された「マラリア制圧及び撲滅に向けた国家戦略計画 2016－2020」の作成には、JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が IPL の代表としてアドバイザリーメンバーとして参加しており、プロジェクトの研究成果や知識・経験を踏まえた助言を行った。 ・他方、チャンパサック県で流行するメコン住血吸虫症の根絶に向け、2016 年 5 月、7 月の保健省の対策会議で、流行状況をモニタリングするためのセンチネル・サイト 7 村の選定、調査方法、並びに検査方法について上記の JICA 専門家が助言を行った。 さらに 2016 年からは WHO 西太平洋事務局（Western Pacific Regional Office：WPRO）の日本人アドバイザーの助言に基づき、住民の糞便検査だけでなく、血中のメコン住血吸虫に対する抗体の有無を調査することを決定した。しかしラオスでメコン住血吸虫の抗体検査（ELISA 法）を実施できる研究機関とラオス人材がいなかったため、2016 年 10 月に JICA 短期専門家（東京医科歯科大学研究者）が、IPL 寄生虫研究室スタッフに ELISA 法の技術移転を行った。 ・このように、保健省行政官に対して政策や戦略策定のための研修を行ってはいないが、JICA 専門家がさまざまな形でラオスの寄生虫病対策のための政策、戦略策定のために協働している。また、各種フィールド調査では県や郡の保健局と協力して活動を行っていることから、中央や地方の行政官の能力強化は図られていると考えられる。
5-5. LNHRF で、研究結果等を発信するためのワークショップを開催する。	・2014 年、2015 年、2016 年と毎年、LNHRF で本 SATREPS プロジェクトのセッションを設け、チーフアドバイザー（NCGM 部長）が座長を務め、プロジェクトメンバー（日本人、ラオス人）が研究成果を発表している。 ・2016 年には、IPL の若手ラオス人研究者 2 名、日本人大学院生 2 名、を含む 6 名が本プロジェクトの成果を発表し、活発な質疑応答が行われた。 ・プロジェクト最終年の 2019 年には、プロジェクトの研究成果を包括的に共有するカンファレンスを行うことを計画している。

３－２－２　成果の達成

（1）成果１

成果１の達成度を以下に示す。

表３－８　成果１　達成度

成果１：マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の、より簡便で精度の高い診断法（PCR 法・LAMP 法等）が開発・普及される。	
指　標	達　成　度
1-1. 開発したマラリアの診断法の感受性、特異性が共に90%以上。	・開発したマラリア診断のための PCR 法による DNA 検出法の感受性、特異性は、ともに従来の診断法（顕微鏡検査、RDT）に対して 90%以上であった。反対に PCR 法の感受性を 100%とした場合、熱帯熱マラリアの顕微鏡検査の感受性は 20%、RDT の感受性は 40%であり、特異度は同 100%であった。また PCR 法の感受性を 100%とした場合、三日熱マラリアの顕微鏡検査の感受性は 5%、RDT の感受性は 8%であり、特異度は同じ 100%であった。 ・また、活動 4－1 で示したとおり、マラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法は栄研化学株式会社が開発した「Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit」（DNA 抽出キット及び検出機器も含む）を使用しており、顕微鏡検査法や免疫クロマトグラフ法よりも感度が大幅に高いことが確認されている。
1-2. 開発したメコン住血吸虫の遺伝子診断法で、対象地域の中間宿主貝の検体、並びに患者検体（糞便）の 80%で診断が行われる。	・保健省はメコン住血吸虫の中間宿主貝の検査を実施していない。 ・プロジェクトが開発を行った LAMP によるメコン住血吸虫 DNA 検出法の検出感度は従来の顕微鏡検査の感度より 8 倍高く、中間レビュー調査時点ではプロジェクトの研究として中間宿主貝や糞便検体の検査に適用されている。 ・メコン住血吸虫症のラオスにおける唯一の流行地域であるチャンパサック県保健局にはすでに、マラリア診断ための LAMP 法による DNA 検出法が 2016 年 8 月から導入されているので、技術的にはメコン住血吸虫の LAMP 法を導入することは可能である状態にある。
1-3. 開発したタイ肝吸虫の遺伝子診断法が、対象地域のタイ肝吸虫症患者の補助診断法として IPL で全ての診断に適用される。	・プロジェクトはタイ肝吸虫診断のための LAMP 法による DNA 検出法の開発を進めているが、従来法である顕微鏡検査法の感度や特異度に問題がある可能性があり、プライマー設計や LAMP 反応の条件検討も含めた見直しを行っている段階である。 ・なお、IPL は医療施設等からの依頼に応じて、タイ肝吸虫症疑い患者からの検体について補助情報としての DNA 検出を行う。したがって、本指標のように「IPL ですべての診断に適用される」のではなく、IPL でタイ肝吸虫 DNA 検出が行える方法を確立することと中間レビュー調査チームは解釈する。
1-4. 5 年間で 5 報以上、学術誌に研究に関する論文発表を行う。	・中間レビュー調査時点では、メコン住血吸虫症の遺伝子診断（LAMP 法）に関する論文を作成中である。

マラリアについては、ラオスにおいてIPLでのマラリア研究のためにPCR法によるマラリア原虫DNA検出法を開発した。これはラオスでマラリア検査に用いられている顕微鏡法や免疫クロマトグラフ法を用いた迅速診断キットよりも高い感度を示した。臨床検査サービスとして県レベルのSMPEへの導入を考慮する場合には、特別の機器や試薬を要するPCR法はそぐわない。本プロジェクトでは、迅速で操作が簡便、感度の高い栄研化学株式会社が開発したLAMP法によるマラリア原虫DNA検出キット「Loopamp™」を同社の協力を得て、ビエンチャンのIPL、CMPEに加え、ルアンパバーン県（北部）、サバナケット県（中部）、チャンパサック県（南部）のSMPEへ導入した。上記3県はそれぞれの地域を管轄する拠点であり、この4カ所でラオス全土をカバーしたといえる。中間レビュー調査時点ではマラリア診断の「補助診断法」として運用が開始されている。しかしながら、新規診断法を臨床診断に適用するには臨床性能を評価するために臨床検体の試験を継続し、同診断法がラオスのマラリア診断の公定法として承認される必要がある。中間レビュー調査以降は同法の臨床性能を評価するための情報を蓄積し、ラオスのマラリア予防・診断ガイドラインの改定までに公定法として認証を受けることを目指している。

メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についてはラオスでの運用性を考慮し、遺伝子検出法としてはPCR法の開発は行わず、LAMP法によるDNA検出法の開発を進めている。メコン住血吸虫症診断のためのLAMP法によるDNA検出法に関しては、2016年10月に従来法である顕微鏡検査より8倍高い検出感度が得られ、既にプロジェクトで実施している中間宿主貝や患者の糞便検体の解析に適用されている。メコン住血吸虫症の流行地域はチャンパサック県のみであり、同県保健局へ同法の導入は、技術的に可能な状況[14]である。一方で、臨床現場では糞便検査による診断は実施されておらず、保健省及び県保健局が特定の地域で流行状況調査を能動的サーベイランスとして実施する際に検査が行われているため、成果1で示されるように本法が「普及」（臨床検査としてラオスで適用されること）を目指す意義は小さい。本法が保健省等による流行状況把握のための能動的サーベイランスに使用されれば、より正確に流行状況を測定することに貢献すると考えられるため、本法をラオスのメコン住血吸虫症対策の中でどのように活用するかについて、プロジェクトは中間レビュー調査以降に保健省等の関係機関と協議を進めることを予定している。

他方、タイ肝吸虫症診断のためのLAMP法によるDNA検出法開発は技術的には完了したものの、基準となる顕微鏡法で得られた検査結果の信頼性が担保できないことから、本法そのものの感受性度と特異度の評価が困難な状況である。また、タイ肝吸虫症流行地域では、住民に対して年1回のプラジカンテルによる集団駆虫が行われているが、淡水魚の生食を行う食文化により大部分が駆虫後1年以内に再感染する状況が確認されている。このような状況で迅速簡便で感度の高いLAMP法によるDNA検出法の開発にどの程度意義があるか議論の余地あることが示唆されるが、IHRの要求事項を考慮すると、各国の中央ラボでいくつかの診断法のオプションを有しておくとの観点では、同法の開発の意義はあると考えられる。本件についても、プロジェクトは中間レビュー調査以降、保健省や

[14] しかしながら、本法で用いる試薬は低温保存の必要性があるため、実際の臨床検査サービスの中での運用を考慮した場合は、試薬の凍結乾燥等の改良が必要である。

WHO などの関係者と協議を行う必要がある。

以上のことから、各遺伝子検出法の目的や用途を考慮した場合、ラオスの寄生虫病研究や対策を行う上で必要な遺伝子診断法は順調に開発が進められているといえることから、成果 1 の中間レビュー調査時点での進捗としてはおおむね適切と考えられる。

（2）成果 2

成果 2 の達成度を以下に示す。

表３－９　成果 2　達成度

成果 2：マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の病原体とベクター（媒介者）の集団としての遺伝子構造の時空間的変化がモニタリングされる。	
指　標	達　成　度
2-1. マイクロサテライトマーカーを用いた eBURST diagram が経時的に作成される。	・マイクロサテライトマーカーを用いた eBURST diagram の作成は病原体やベクターの集団としての遺伝子構造の時空間的変化を評価する一つの「手段」であり、eBURST diagram のみで「目的」である成果 2 の達成度を測定することはできない。 したがって、中間レビュー調査における成果 2 の達成度は、これまでの成果 2 に関連する研究成果を総合的に評価することとする。
2-2. 5年間で2報以上、学術誌に研究に関する論文発表を行う。	・プロジェクトは 2016 年にマラリアの遺伝子診断（PCR 法）による無症状キャリアの検出に関する論文を Malaria Journal に発表した [15]。 ・中間レビュー調査以降は、熱帯熱マラリア原虫と三日熱マラリア原虫に関して、集団遺伝学的手法を用いた遺伝子構造の時空間的変化に関する解析をそれぞれについて実施し、それぞれ 1 報ずつ学術論文に取りまとめる予定である。

成果 2 に関する成果として、プロジェクトにおいてこれまでに既存のデータ分析から、ラオスで報告されるマラリアのうち熱帯熱マラリアの占める割合が年々減少し、三日熱マラリアの占める割合が増加していることが明らかとなった（活動 2-1 を参照）。さらに、プロジェクトが実施した流行域の住民に対する能動的サーベイランスによって、特に三日熱マラリア原虫の無症候性キャリアが予想以上に多いことが明らかとなった。具体的には、従来の顕微鏡検査や免疫クロマトグラフ法に基づく RDT では陰性と診断される検体の中に、遺伝子診断技術（PCR 法、LAMP 法）を用いると陽性と診断される検体が多数検出された（活動 2-4-1 を参照）。ラオス政府等の努力によりマラリア患者数が減少傾向にあるなかで、プロジェクトがマラリア撲滅に重要なリザーバーとしての無症候性マラリア感染者の実態を明らかにしたことは、中間レビュー調査までのプロジェクトの重要な成果の一つと考えられる。今後は更に詳細な解析を行い、保健省や WHO 等と対策について協議が行われる見込みである。また、これに関連して、プロジェクトは三日熱マラリアのプ

[15] Pongvongsa T. et al. *Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR*. Malar J. 2016;15:508.

リマキンによる根治療法を実施した際に重大な有害事象（急性溶血性貧血）が惹起される可能性がある G6PD 欠損をもつ住民の状況を調査している。このことは一般の根治療法を安全に実施するためにも重要であるが、三日熱マラリア原虫感染に向けた集団駆虫を考慮する上で重要である。これまでにプロジェクトはラオスの流行域の住民の G6PD 欠損症の罹患率について遺伝疫学的に解析を進めており、一定の知見を得ている。中間レビュー調査以降もさらに解析を進め、研究成果のマラリア治療ガイドライン（プリマキンによる治療）への反映や、プリマキンによる集団駆虫は今だ議論が多いことから、その是非を検討するための基礎情報の提示をプロジェクト期間終了までに行う予定である。

成果 2 の達成度測定のための指標について、活動 2-3 で示したとおり、病原体とベクターの集団としての遺伝子構造の時空間的変化を明らかにするために、①分子系統解析、② eBURST 解析、③クラスター解析、④必要に応じて他の解析手法などを行う。遺伝子構造の時空間的な変化が明らかとなることによって、流行状況の把握や今後の流行の傾向分析が可能となり、さらに集団の遺伝的多様性を評価することによって対策の効果判定や他地域からの病原体の流入を評価することが可能となる。

マラリアに関して、中間レビュー調査までにプロジェクトはマラリア疑い患者の血液サンプルを経時的かつ広範囲から収集する体制を整備した。現在、PCR 法によるマラリア原虫の種鑑別を行っている段階であり、この作業が終了次第、マイクロサテライトマーカーを用いた eBURST 解析を含む集団遺伝学的手法を用いたマラリア原虫の遺伝子構造の変化を時空間的に解析する予定である。

メコン住血吸虫症については、近年の対策が奏功し、患者数が大きく減少している。そのため、メコン住血吸虫のライフサイクルの中にある感染中間宿主貝の数も減少していることから、原虫に対して集団遺伝的解析を行うのに十分なサンプル数を収集することが困難である。したがって、メコン住血吸虫症に対しては、本解析を適用することは非常に困難である。他方、タイ肝吸虫症については年 1 回のプラジカンテルによる集団駆虫を行っても、約 90％の流行地域の住民が独自の食文化のために再感染することが明らかとなっている。このような高い感染率が持続する環境において、集団遺伝学的手法を用いたメコン住血吸虫の遺伝子構造の時空間的変化を評価することが、ラオスのタイ肝吸虫症対策に貢献する程度は限定的と考えられる。また、同様の理由により、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症については、分子疫学的に流行の決定因子や拡散因子の評価を行うことが困難であることも明らかとなった。

このほかにも、プロジェクトは中間レビュー調査までに約 2 万のマラリア疑い患者の血液検体を収集しており、この検体を解析することによってプロジェクト期間内のサルマラリアのヒト感染症例を発見できる可能性は一定程度期待できる。

このように、マラリアに関しては中間レビュー調査までに既に今後の対策を考慮する際に重要な疫学的知見が得られており、今後も集団遺伝学的手法等を用いた高度な解析の結果が論文として国際誌等に発表されるとともに、高いエビデンスを伴う政策提言としてプロジェクト期間終了までに取りまとめられることが大いに期待できる。メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症については、上述したような理由により評価が困難であるが、総合的に判断すると、中間レビュー調査時点での成果 2 の達成度はおおむね適切と考えられる。

(3) 成果 3

成果 3 の達成度を以下に示す。

表３－10　成果 3　達成度

成果 3：薬剤耐性マラリアの出現と拡散のメカニズムが分析される。	
指　標	達　成　度
3-1. 2 つ以上の薬剤耐性マーカーが解明される。	・薬剤耐性に寄与するマーカー遺伝子の検索は中間レビュー調査以降に予定されているため、中間レビュー調査時点では本指標に関する研究成果や関連する達成事項はない。 ・ただし、薬剤耐性マラリアの出現と拡散メカニズムの解明に資する知見や研究成果は既にいくつか得られている（活動 3-1 及び 3-2、以下の概説箇所を参照）。
3-2. 薬剤耐性の出現と拡散に関する研究成果が、5 年間の内に 1 報以上、学術誌に掲載される。	・2016 年に、パスツール研究所国際ネットワークと共同で、世界の熱帯熱マラリア原虫のアルテミシニン耐性遺伝子変異の有無について研究した結果を New England Journal of Medicine に発表した。ラオスにおけるアルテミシニン耐性遺伝子に関する分析は IPL 寄生虫学研究室が担当していることから、本プロジェクトが標記論文の発表に一部貢献したといえる。 ・ラオス南部 4 県すべてと中部 1 県（サバナケット県）からマラリア疑い患者からの血液検体の収集を継続しており、中間レビュー調査以降はこれら 5 県の検体について更に分析を進め、アルテミシニン耐性遺伝子変異の分布状況を明らかにする予定である。

成果 2 の活動 2-1 で示したとおり、2009 年はラオスで報告されるマラリアの 99％が熱帯熱マラリアであったが、2015 年には熱帯熱マラリアが 40％に減少し、三日熱マラリアが 58％に上昇している。このことは、薬剤耐性マラリアの出現と拡散について、熱帯熱マラリアだけでなく三日熱マラリアについても調査する必要性があることを示唆している。

クロロキン耐性熱帯熱マラリアがメコン地域に多いことから、ラオスではクロロキンの使用が禁止されている。しかしながら、プロジェクトがクロロキン耐性責任遺伝子 *pfcrt* について解析したところ、クロロキン感受性型（野生型）の熱帯熱マラリア原虫が増加する傾向にあることが確認された（活動 3-1 を参照）。野生型熱帯熱マラリアの増加は、クロロキンによる選択圧が減少したことが一因であると推察されるが、検体数が少ないので現時点では断定することは困難である。今後は検体数と調査地域を広げて解析を進める予定である。

また、プロジェクトでアルテミシニン耐性に関連する遺伝子 *K13* について解析したところ、サバナケット県では 2010 年では調査した検体すべてにおいて *K13* 遺伝子の変異は観察されなかったが、2015 年に採取された検体からは 3％でアルテミシニン耐性に寄与する遺伝子変異（C580Y）が検出された。このことは、サバナケット県にもともと存在している原虫の *K13* 遺伝子が変異したか、権威を持つ原虫集団が他の地域から流入している

可能性を示唆するものである。また、サバナケット県に隣接しているサラワン県ではサバナケット県の3%に対し有意に高い63%の検体で *K13* 遺伝子のC580Y変異が観察された。このことは、サラワン県では既にアルテミシニン耐性に寄与する *K13* 遺伝子の変異の分布が高度となっていることに加え、南部4県の中で分布の程度に大きな地域差があることを示唆するものである。中間レビュー調査以降は他の地域で収集した検体の分析結果も追加し、より詳細な耐性遺伝子変異の分布に関する解析を進める予定である。

より詳細な薬剤耐性遺伝の発生や拡散メカニズムを検討するために、プロジェクトは上述以外に新しい薬剤耐性マーカーの探索を予定している。この活動は中間レビュー調査以降に本格的に実施されることが予定されているが、上述したとおり、中間レビュー調査時点で薬剤耐性の発生や拡散のメカニズムに関する重要な知見を得ていることから、中間レビュー調査時点での成果3の達成度は適切であると考えられる。

（4）成果4

成果4の達成度を以下に示す。

表３－11　成果4　達成度

成果4：開発された診断方法によるマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症のサーベイランスに基づき、地域の行政機関とともに住民教育が強化され、流行の監視が実施される。	
指　標	達　成　度
4-1. マラリア及びタイ肝吸虫症について、対象地域での顕微鏡陽性率（Slide Positivity Rate：SPR）と遺伝子検査陽性率との一致率が90%以上。メコン住血吸虫症は80%以上。	・マラリアについて、顕微鏡診断はLAMP法によるDNA検出法に比較して検出感度が顕著に低いため、対象地域でのSPRは遺伝子検査陽性率に比べて非常に低くなる。したがって、一致率は当然低くなる。例えば熱帯熱マラリアの場合、遺伝子検査（PCR法）の陽性率を100%とした場合、SPRは20%（一致率20%）であり、三日熱マラリアの場合、PCR法の陽性率を100%とした場合、SPRはわずか5%（一致率5%）である。 ただし、従来法である顕微鏡法や免疫クロマトグラフ法に基づく迅速診断キットと比較して検出感度が大幅に高いLAMP法によるDNA検出法（Loopamp™）を県保健局に導入していることから、感度の高い検出法に基づくマラリア流行の監視との観点からは、目的はおおむね達成できていると考えられる。 ・メコン住血吸虫症についても同様に、顕微鏡法よりも8倍高いLAMP法によるDNA検出法が開発されたため、当然一致率は著しく低くなる。 ・タイ肝吸虫症については、顕微鏡法による診断結果の信頼性に問題がある可能性が高く、現時点でSPRと遺伝子検査（LAMP法）陽性率のどちらが正しいのか評価することは困難である。

4-2. 3 疾患の予防に関する住民教育の教材が考案され、地域の行政機関に提出される。	・疾患の予防に関する住民教育の IEC（Information, Education and Communication の略）教材作成は中間レビュー調査以降に予定されている活動である。 ・すでに、ラオスでは学校の教科書にマラリア感染予防に向けて、蚊に刺されないように、また蚊の発生場所を減らすようにとの内容が記載され授業で使われている。 ・また、タイ肝吸虫症について、魚を加熱調理して食べるようにと教科書に記載されている。さらに衛生教育全般として手洗い、並びにトイレを利用するようにとの記載も教科書にある。 ・すなわち、学校保健を通した住民教育に関する教材はおおむね確立していると言えることから、今後、だれを対象にどのような方法（教材開発も含む）で対象疾患の流行の監視や予防制御のための介入等を実施するか検討する必要がある。

プロジェクトで導入または開発したマラリアとメコン住血吸虫症の遺伝子診断方法は従来の顕微鏡検査よりも検出感度が高いことから、従来法との一致率は当然低くなる。しかしながら、マラリアについては既に北部、中部、南部地域を管轄する主要な県保健局 SMPE 3 カ所に LAMP 法による DNA 検出法の技術及び必要な測定機器等が導入されており、診断サービスに使用され始めている。したがって、マラリアに関しては感度の高い検出法に基づくマラリア流行の監視との観点からは、目的はおおむね達成できていると考えられる。メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症診断のための DNA 検出法については、中間レビュー調査時点でおおむね技術開発は完了しているが、成果 1 の達成度でも示したとおり、これらの遺伝子検出法をどのようにラオスにおけるメコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症流行の監視に適用させるかには、保健省などの関係者間の議論の余地があると考えられる。

他方、成果 4 は成果 1 ～ 3 で得られた知見や研究成果を踏まえた（根拠に基づく）感染予防や制御のための社会科学的介入（健康教育やポジティブ・デビエンスなど）を検討するものである。指標の達成度で示したとおり、学校保健の観点ではマラリア予防制御のための教材開発を改めてする必要性があるかは疑問である。一方、プロジェクトはマラリア流行地域での調査で 11%の無症候性マラリア感染者を発見し、ラオスのマラリア対策を行う上の重要性を示している。この調査では特に森林労働者を含む屋外労働に従事する成人男性に感染者が多いことが示唆されており、プロジェクトで中間レビュー調査以降、このような手段に対する感染予防に関する社会科学的アプローチについて、保健省や WHO と協力して進めていく予定である。

メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についても、学校の教科書には既に、防蚊対策、魚の生食の禁止、トイレ、手洗いの推奨が記載されており、新たに教材を作成することには議論の余地がある。また寄生虫症が流行しているラオスの地方部では特に成人の識字率が低く（調査対象者の識字率は 54%）、どのような手段でメッセージを伝達するかについては、慎重に検討する必要がある。なお、タイ肝吸虫症に関して、プロジェクトではこれまでに非感染者がいる家庭では感染者のいる家庭に比較して魚をさばいた後のまな板が衛生的に管理されている傾向が観察され、感染を防ぐ要因（ポジティブ・デビエンス）である可

能性を示唆する調査結果を得ている。中間レビュー調査以降はまな板の魚の付着物中にタイ肝吸虫の存在を証明するための試験を行うとともに、プラジカンテルによる集団駆虫後の非感染状態維持に向けたポジティブ・デビエンスの観点からの介入試験も検討している。

以上のことから、中間レビュー調査までにプロジェクト後半で予定されている対象疾患の予防制御に向けた基礎的技術開発や基礎情報調査は、おおむね終了したといえる。したがって、成果 4 に関する中間レビュー調査時点での達成状況はおおむね適切と考えられる。

(5) 成果 5

成果 5 の達成度を以下に示す。

表３－ 12　成果 5　達成度

成果 5：ラオスの研究者及び行政官のマラリア・寄生虫感染対策に関する能力が強化される。	
指　標	達　成　度
5-1. ラオス人研究者に対し、マラリア及び寄生虫症対策に関する基礎研修が年に一度実施される。	・マラリアが多いラオス南部 4 県と中部 1 県（サワナケット県）の保健人材 156 名に対し、マラリア及び寄生虫症対策に関する基礎研修を 2015 年と 2016 年に 1 回ずつ実施した。今後も年 1 回程度でリフレッシャー研修を継続する予定である。 ・2016 年 5 月には、ラオス国立保健科学大学修士課程の学生 5 名に対し、マラリア及び寄生虫症対策に関する研修と実習、並びに DNA の基礎と PCR 法に関する研修を 1 カ月間行った。
5-2. ラオス人研究者が主となる研究成果の発表あるいは学術誌への論文掲載が 5 年 5 報以上行われる。	・2016 年、ラオス人研究者（サバナケット県保健局 SMPE のチーフ）が主となる研究成果の論文発表（Malaria Journal）を 1 報発表した。 ・中間レビュー以降はこれまで収集した検体の分析も進められ、より高度な研究が実施される見込みである。その中で、JICA 専門家（研究者）の指導の下でラオス人研究者が主体的に学術論文の作成が行われる見込みである。
5-3. LNHRF において、関係研究者及び行政官の活動の報告が毎年行われる。	・LNHRF において、関係研究者及び行政官の活動の報告が毎年行われている。 中間レビュー調査以降もプロジェクトで得られた知見や研究成果は同フォーラムで報告される見込みである。

IPL 寄生虫学研究室では、JICA 長期専門家、JICA 短期専門家と IPL 寄生虫病研究室のラオス人スタッフ（NIOPH 併任の研究員 1 名、ジュニア研究員 2 名及び技術補助員 2 名）がプロジェクトの研究に取り組んでいる。中間レビュー調査までは研究実施体制の構築や収集した膨大な検体の基礎的な処理・分析等が中心であったが、中間レビュー調査以降は研究の計画や結果の解釈など研究者能力向上のためのディスカッションの機会を増やしていく予定であり、長期専門家の指導の下、英文での抄録作成や学会発表用ファイルの作成、並びに発表練習もより精力的に行う予定である。しかしながら、特に若手のラオス人研究者は英語による論文執筆の経験が乏しく、英文論文を多く読むなどの自助努力を一層行うことが求められる。

他方、プロジェクトでは現場の寄生虫病対策を担う県や郡の保健人材合計156名に対してマラリア及び寄生虫病対策に関する研修を提供している。このことは対象疾患の予防対策に資するだけではなく、研修を実施したことの副産物としてサンプル収集を国全体で定期的に行えるネットワークの構築につながった。

中間レビュー調査以降はより高度な分析や結果の取りまとめ、学術論文の執筆や学会発表の機会が多くなると考えられる。以上のことから、中間レビュー調査時点での成果5に関する達成状況はおおむね適切であると考えられる。

３－２－３　プロジェクト目標の達成度

表３－13　プロジェクト目標の達成度

プロジェクト目標：開発されたマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の遺伝疫学的診断方法に基づく研究成果が疾病対策等の行政サービスに反映される。	
指　標	達　成　度
1. 疾病ごとのリスクマップが作成され、保健省感染症対策局等の関係部署と共有される。	・マラリアのリスクマップは既にNGOの協力の下、保健省で作成されており、本プロジェクトでは作成しない。 ・メコン住血吸虫症について、チャンパサック県コーン郡の一部の地域（Don Long島とDon Khon島）の調査サイトにおける感染貝の検出結果（場所も含む）をCMPEと共有した。 しかしながら、感染貝の検出結果は調査を実施した場所のみの情報であり、流行域全体でのリスク地域を評価したものではない。2016年9月から10月に実施されたCMPEとプロジェクトの合同調査の結果、メコン住血吸虫症罹患率が0%から8%と村によって異なっていることが観察された。感染者が確認された村についてはリスクマップ作成の意義は高いと考えられるが、確認されなかった村についてはリスクマップ作成の必要性は低いと考えられる。 ・タイ肝吸虫症について、流行域での調査ではKato-Katz法による顕微鏡検査の感染率が非常に高く、流行域であればどこでもリスクがあるといえる。また淡水魚が感染源となるため、リスクマップの作成の意義は、必ずしも高くない。
2. 研究成果に基づいた疾病ごとの対応方針が考案され、保健省感染症対策局等の関係部署と共有される。	・プロジェクトの研究成果は常にCMPEと共有されている。またDCDCとIPLは毎年1回、成果報告会を開催している。 ・また、IPLで活動するJICA長期専門家（NCGM研究者）は、IPL寄生虫学研究室スタッフとして、保健省やWHO等の主催するマラリアや寄生虫病対策にかかわる会議に出席し、研究成果の共有や専門家として技術的なアドバイスなども適宜行っている。 特筆すべきこととして、2016年1月に保健省DCDCとCMPEによって発表された「マラリア制圧および撲滅に向けた国家戦略計画2016－2020」の作成には、JICA長期専門家（NCGM研究者）がIPLの代表としてアドバイザリーメンバーとして参加しており、プロジェクトの研究成果や知識・経験を踏まえた助言を行った。

これまで示してきたとおり、プロジェクトは中間レビュー調査までに特にマラリアに関してラオスにおける流行状況（非症候性キャリアも含む）や薬剤耐性に寄与するメカニズム等について重要な知見や研究成果を得ており、学術論文として発表されている。中間レビュー調査以降はより多角的かつ高度な分析も予定されており、ラオスのマラリア対策にかかわる政策策定や具体的対策に資するより多くの研究成果が創出されることが見込まれる。また、簡便で感度の高いLAMP法を用いたDNA検出法も北部、中部、南部、ビエンチャンの主要な研究施設、検査施設に導入されており、それらの施設で寄生虫病対策に従事する保健人材の育成も進められている。さらに、成果の達成度でも示したとおり、IPLで活動するJICA長期専門家（NCGM研究者）は国レベルの対策会議等にメンバーとして参加しており、研究成果の共有や技術的アドバイスを実施している。以上のことから、マラリアに関しては既に当初の目的の一部は達成していると考えることも可能である。中間レビュー調査以降も研究活動と並行して、研究成果を踏まえた保健省やWHOなどの関係機関と情報共有や連携が更に促進されることが期待される。

一方で、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症に関しては、LAMP法によるDNA検出法について技術的には開発作業はおおむね終了している。しかしながら、メコン住血吸虫症については患者数が大きく減少しており、一方でタイ肝吸虫症についてはラオスの食文化により高い感染率が持続する状況にある。IHRの下感染症に対する備えを適切に行うことはすべてのWHOメンバー国に求められており、検査、診断法のオプションを準備しておくことが必要であり、プロジェクトでこれらの寄生虫病に対する感度の高いDNA検出法を備えておくことの意義はあると考えられる。しかしながら、ラオスにおいてこれらの検出法をどのように運用するかについては、中間レビュー調査以降に保健省等の関係機関と慎重に議論する必要がある。他方、プロジェクトでは特にタイ肝吸虫症について、食文化を含む流行域の環境を踏まえながら、他の遺伝子検査や疫学研究と連携しつつ、感染率低下に向けた社会科学的アプローチの研究を開始している。中間レビュー調査以降はポジティブ・デビエンスに基づく介入試験の実施も検討しており、プロジェクト期間終了までに保健省や関係機関に対して、政策策定や具体的対策実施に資する研究成果が提示できることが期待される。

以上のことから、プロジェクト目標の中間レビュー調査時点での達成状況は良好であり、今後もラオスの寄生虫病対策に資する研究成果が得られることが期待される。他方、IPL寄生虫学研究室のラオス人スタッフは若手が多く、中間レビュー調査以降は研究者としての更なる能力向上に向け、共同研究を実施することが求められる。

３－３　実施プロセスの検証

３―３―１　プロジェクト管理と関係者間のコミュニケーション

IPLは2008年にラオスで設立され、プロジェクトが開始された2年前の2012年に現在の施設が開所されている。本プロジェクトに参加している日本側研究機関はプロジェクト開始前からIPLやNIOPHなどのラオス側プロジェクト実施機関と共同研究を開始しており、プロジェクト開始時点で一定の協力関係は構築されていた。IPL開所以来、IPLの寄生虫学研究室はNCGMの支援のもとでラオス－日本合同研究室として運営されており、本プロジェクトのチーフ・アドバイザー（NCGM部長）が研究室長、JICA長期専門家（NCGM研究者）が研究室管理者、JICA短期専門家として本プロジェクトに参加している日本人研究者が客員研究員とし

て、ラオス人研究者とともに主体的に研究活動、研究室運営管理を行っている（IPL の組織図は付属資料 Annex 7 を参照）[16]。IPL では週に 1 回の研究室長会議が実施されており、研究成果の共有や共同研究の可能性なども議論されている。特に IPL ではこのような会議機会等を通して研究室間の分野横断的共同研究を推奨しており、本プロジェクト（寄生虫学研究室）も他の研究室と積極的に技術交流や情報共有がなされている。また、IPL 所長はプロジェクト・マネージャーとして位置付けられており、ラオスでの共同研究を強力にリードしており、プロジェクトの円滑な運営管理や研究の推進に大きく貢献している。

また、プロジェクト目標の達成度でも示したとおり、本プロジェクトのラオス側管理機関である CMPE とは日常的に情報共有を行っており、WHO などのラオスのマラリア、寄生虫病対策にかかわるパートナー機関とも各種委員会や会議等で積極的に研究成果の共有や技術的なアドバイスなど交流が図られている。

３－３－２　オーナーシップ及び自立性

これまで示してきたとおり、CMPE は本プロジェクトによる研究成果や研究者、地方部の保健人材への技術移転を重視しており、日本の研究機関や IPL をラオスのマラリア、寄生虫病対策に重要なパートナーと認識している。しかしながら、同研究室に所属するラオス人スタッフは若手研究者が多く、ラオス側関係機関のプロジェクトに対するオーナーシップの認識はあるものの、IPL としての組織システムにより、本プロジェクトの活動の実施機関となる寄生虫学研究室は日本側研究機関が研究の実施や運営管理を実質的に行っている。

本プロジェクトの JICA 専門家（日本人研究者）は研究成果の創出だけでなく、ラオス人研究者や保健人材の能力強化を強く意識して共同研究を実施しており、将来的には同研究室をリードできるような研究者の育成を念頭に置いた活動を実施している。

[16] IPL の他の研究室も外国人研究者が研究室長となり、国外の支援が主体的に研究室の運営管理を行う体制となっている。

第4章　評価結果

４－１　妥当性

プロジェクトの妥当性はこれまで高く維持されている。

４－１－１　ラオスにおける保健政策・科学技術政策やターゲットグループのニーズとプロジェクト目標の一致性

ラオスでは他の東南アジアの国々と同様、近年の死亡原因における非感染性疾患の割合は増加傾向を示しているが、マラリア、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症はラオス国民の健康及び社会経済に重大な影響をもたらす感染性疾患として認識されている。マラリアに関しては、LLIN の流行域の住民への配布など保健省や WHO ラオスなどにより、マラリア罹患率は大きく低下している。このような状況の下で WHO はラオスを含む拡大メコン圏（Greater Mekong Subregion：GMS）6 カ国[17] において 2025 年までに熱帯熱マラリア、2030 年までにすべてのマラリアの撲滅を目指す「拡大メコン圏におけるマラリア撲滅戦略 2015–2030」を策定した。保健省はこの戦略に基づき、WHO や JICA 専門家や IPL が支援する本プロジェクトの協力の下で 2016 年 1 月に「マラリア制圧及び撲滅のための国家戦略 2016－2020」を発表した。この中で、マラリア撲滅に向けて WHO や JICA、GFATM などの開発パートナー機関、IPL やラオス–オックスフォード–マホソット病院 ウェルカムトラスト研究ユニット（Lao-Oxford-Mahosot Hospital Wellcome Trust Research Unit：LOMWRU）などの研究機関が一丸となって活動することが明記されている。

また、「第 8 次保健セクター開発 5 ヵ年計画 2016－2020」の中では、マラリアだけでなく本プロジェクトの対象疾患であるメコン住血吸虫症やタイ肝吸虫症などの寄生虫疾患に対する対策の重要性を明記しており、IHR 等の国際的な基準に沿って国レベル、地方部の検査施設の機能強化（人材育成や品質管理なども含む）を行うことや、サーベイランス機能強化、薬剤耐性対策、健康教育の強化などが具体的な取り組みとして示されている。

本プロジェクトでは、ラオスの研究機関や行政機関と協力して、マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に対して簡便で感度の高い遺伝子検査法の開発や、疾患の分布状況や耐性遺伝子変異の分布状況の解析、社会科学的研究アプローチによる寄生虫非感染状態維持の要因探索などの研究を行うことで、根拠に基づく政策策定や（能動的・受動的）サーベイランス機能強化に貢献することを目指している。また、プロジェクトではこれらの共同研究を通して IPL や中央、地方のマラリア及び寄生虫病対策にかかわる行政機関、研究機関の機能強化、人材育成の実施も重要なプロジェクトの成果の一つとしている。

以上のことから、本プロジェクトを通じたラオス日本双方の研究機関の技術力向上や根拠（研究成果や新規知見など）に基づいた感染症対策を行う本プロジェクトの目的とラオスの保健政策並びにニーズとの一致性は高く維持されている。

４－１－２　日本の援助方針とプロジェクト目標の一致

日本政府は従前から感染症対策に関する支援を進めてきていた。国際保健政策 2011-2015 で

[17] メコン河流域 6 カ国（カンボジア、ラオス、ベトナム、タイ、ミャンマー及び中国雲南省）のこと。

はNTD対策、新興・再興感染症への備えと国際連携の推進がより明確に打ち出されていること、また、2015年9月に日本政府が発表した「平和と健康のための基本方針」及び「国際的に脅威となる感染症対策の強化に関する基本方針」において公衆衛生危機・災害等の外的要因に対しても強靭な健康安全保障体制を構築すること、国際的に公衆衛生上の脅威となる感染症の発生国・地域に対する日本の貢献及び役割の強化がそれぞれ謳われている。2012年4月に策定された我が国の対ラオス国別援助方針では、「保健医療サービスの改善」は4つの重点分野[18]の1つに位置付けられている。

以上のことから、共同研究を通じてラオスの保健医療サービスや薬剤耐性対策への貢献を目指している本プロジェクトの目標と、我が国のラオスに対する援助政策との一致性は高いと認められる。

４－１－３　実施方法の適切性

(1) 感染者数が著しく少ない、もしくは、著しく多い寄生虫病に対して検出感度の高い遺伝子検出法を開発する論理的根拠

成果1の達成度で示したとおり、近年のメコン住血吸虫症は近年の駆虫薬の集団駆虫等の介入により感染者数は著しく減少し、撲滅に近い状態となってきている。他方、タイ肝吸虫症に関しても駆虫薬による集団駆虫を年に1回実施しているが、中間宿主となる淡水魚を非加熱で食べる食文化によって、高浸淫地域では約9割の住民が再感染している。この2つの寄生虫症では状況が真逆であるものの、このような状態において高感度の遺伝子検出法を開発することの意義が必ずしも高くないと考えられる。また、これらの寄生虫病は一般の臨床現場では積極的に検査が行われているわけではなく、感染兆候の有無にかかわらず、流行地域では年1回の集団駆虫が実施される。つまり、これらの寄生虫病に対しては、県保健局や郡保健局の検査施設にLAMP法によるDNA検出法を導入することの意義は現在の状況を考慮すれば必ずしも高くないと考えられる。

しかしながら、保健省は特定の地域を選択して集団駆虫前の住民の罹患率を把握するための能動的サーベイランスを実施している。対象とする寄生虫病の診断は顕微鏡法で実施されるが、特にタイ肝吸虫症に関しては形態学的に非常に類似する虫卵が多数存在し、鑑別診断を検査技師の目視による確認で実施することは困難な状況である。つまり、現在の顕微鏡法による診断においては、類似する虫卵をタイ肝吸虫と誤認している可能性があり、罹患率を過大評価している可能性が示唆されている。このような状況でプロジェクトは開発したLAMP法に基づくタイ肝吸虫DNA検出法の感度を評価できない状況にある。しかしながら、感度や特異度の高い遺伝子検出法が開発されれば、保健省の実施する能動的サーベイランスによる罹患率調査の信頼性が大きく向上し、効果的な対策につながると考えられる。また、国レベルの検査機関もしくは研究機関で精度、感度の高い検査法のオプションを有しておくことは、IHR遵守の観点からも必要であると考えられる。さらに、メコン住血吸虫症は患者数が大きく減少し、撲滅に近づいているからこそ、撲滅達成後の監視に向けて感度の高い検出法を備えておくことの必要性は高いと考えられる。

以上のことから、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についてはLAMP法を用いたDNA

[18] その他の3つの重点分野は「経済・社会インフラ整備」「農業の発展と森林の保全」「教育環境の整備と人材育成」である。

検出法の開発を本プロジェクトで行うことの論理的根拠は確保されたと考えられる。ただし、開発した検出法を具体的にどのように対策に適用させるかについては、保健省やWHOなどの関係機関と慎重に協議することが求められる。

(2) ジェンダーや民族、社会的階層、環境等に対する配慮

事業では感染性物質を取り扱うため人体や環境への影響が危惧されるが、実験操作はJICA専門家（研究者）や現地研究者の監督下で実施されている。このように、プロジェクトで行う研究は、人体または環境への安全配慮を行いながら適切に実施されている。

また、IPLでは施設内倫理委員会（Institutional Review Board：IRB）が2016年に設置され、IPLで実施されるすべての研究計画について倫理審査を実施している。本プロジェクトで実施する研究について、必要なものに関してはIPLや日本研究機関での倫理委員会の審査を受けており、研究倫理が担保された状態で研究活動が実施されている。

４－２　有効性

中間レビュー調査時点でのプロジェクトの有効性はおおむね高い。

４－２－１　プロジェクト目標の達成見込み

プロジェクト目標の達成度で示したとおり、プロジェクトは中間レビュー調査までに特にマラリアに関してラオスにおける流行状況（非症候性キャリアも含む）や薬剤耐性遺伝子変異の発生や拡散に寄与するメカニズム等について重要な知見や研究成果を得ており、学術論文として発表されている。中間レビュー調査以降はより多角的かつ高度な分析も予定されており、ラオスのマラリア対策にかかわる政策策定や具体的対策に資するより多くの研究成果が創出されることが見込まれる。また、簡便で感度の高いLAMP法を用いたDNA検出法も北部、中部、南部、ビエンチャンの主要な研究施設、検査施設に導入されており、それらの施設で寄生虫病対策に従事する保健人材の育成も進められている。さらに、成果の達成度でも示したとおり、IPLで活動するJICA長期専門家（NCGM研究者）は国レベルの対策会議等にメンバーとして参加しており、研究成果の共有や技術的アドバイスを実施している。以上のことから、マラリアに関しては既に当初の目的の一部は達成していると考えることも可能である。中間レビュー調査以降も研究活動と並行して、保健省やWHOなどの関係機関と情報共有や連携が更に促進されることが期待される。

一方で、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症に関しては、LAMP法によるDNA検出法について技術的には開発作業はおおむね終了している。メコン住血吸虫診断のためのDNA検出法は技術的にはラオスでの唯一の流行地域であるチャンパサック県に導入可能な状態となっている。他方、タイ肝吸虫症に関しては、基準となる顕微鏡検査での結果に信頼性が確保されないために、プロジェクトで開発したDNA検出法の感度や特異度の評価が困難な状況である。「妥当性」の項で示したとおり、これらの寄生虫病については開発した遺伝子診断法をどのようにラオスの寄生虫病対策に適用させるかには保健省やWHO等の関係機関と協議が必要であるが、これらの方法を用いて疫学的な調査結果もプロジェクトでは得られていることから、中間レビュー調査時点での達成度としてはおおむね妥当であると考えられる。他方、プロジェクトでは特にタイ肝吸虫症について、食文化を含む流行域の環境を踏まえながら、他の遺伝子検査

や疫学研究と連携しつつ、感染率低下に向けた社会科学的アプローチの研究を開始している。中間レビュー調査以降はポジティブ・デビエンスに基づく介入試験の実施も検討しており、プロジェクト期間終了までに保健省や関係機関に対して、政策策定や具体的対策実施に資する研究成果が提示できることが期待される。

このように、プロジェクトで得られた新規知見や研究成果は保健省やWHOなどラオスのマラリア対策、寄生虫病対策に関係する行政機関、研究機関と適宜共有されている。IPLで活動するJICA長期専門家（NCGM研究者）はIPL寄生虫学研究室スタッフとして、保健省やWHO等の主催するマラリアや寄生虫病対策にかかわる会議に出席し、研究成果の共有や専門家として技術的なアドバイスなども適宜行っており、2016年1月に保健省によって発表された「マラリア制圧および撲滅に向けた国家戦略計画2016－2020」の作成には、JICA長期専門家（NCGM研究者）がIPLの代表としてアドバイザリーメンバーとして参加したことから、プロジェクト目標「開発されたマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症の遺伝疫学的診断方法に基づく研究成果が疾病対策等の行政サービスに反映される」の一部は中間レビュー調査時点で一部達成しているといえる。

このような共同研究による知見や成果に加え、共同研究や研修を通じたラオス人若手研究者や地方の保健行政官、医療従事者の能力強化も図られていることから、プロジェクト期間終了までにプロジェクト目標が達成する見込みは非常に高い。

４－２－２　成果のための外部条件

(1)「ラオスのマラリア及び寄生虫症対策が大幅に変更されない」の現状

「妥当性」の項でも示したとおり、マラリアに関してはGMSの2030年までの全ての種類のマラリア撲滅に向けて保健省は「マラリア制圧及び撲滅に向けた国家戦略2016-2020」を策定するなど、政策的努力を強化している。

また、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についても、「第8次保健セクター開発5ヵ年計画2016－2020」の中では、マラリアだけでなく本プロジェクトの対象疾患であるメコン住血吸虫症やタイ肝吸虫症などの寄生虫疾患に対する対策の重要性が明記されている。

以上のことから、中間レビュー調査までにプロジェクトの対象疾患の政策的重要性が損なわれるような改訂などは実施されていないことから、中間レビュー調査時点で本指標は満たされている。

(2) 外部条件「プロジェクトの成果達成に影響するほど研修を受けたカウンターパートが離職・異動しない」の現状

プロジェクトの直接的なカウンターパートである保健省やIPLの人材21名のうち、これまでIPL寄生虫病研究室のジュニア・サイエンティスト1名がプロジェクト開始後2カ月で退職しているが、プロジェクトの成果達成には影響していない。退職した職員の補填として日本の大学で博士号を取得したNIOPH所属の研究者をパートタイム雇用し、むしろ、ラオスのマラリア対策、寄生虫病対策に関わる機関との協力関係はプロジェクト開始後に拡大しており、必要に応じてプロジェクト・メンバーとして追加されている。

他方、プロジェクトはラオスの感染症対策にかかわる特に地方部の感染症対策担当行政官や医療従事者の能力強化の必要性の認識から、プロジェクト開始から2年目（2015年）

に合計 156 名に対して研修を通した技術移転を実施した。このような保健人材の離職・異動の状況に関しての正確な情報は得られていないが、ラオス側関係者への聞き取りでは、プロジェクトの研修効果が損なわれるほどの離職・異動はないとのことである。また、プロジェクトは一定のスタッフの離職・異動が発生することを想定し、3 年目にリフレッシャー研修を実施している。リフレッシャー研修はプロジェクト期間終了まで年に 1 回の頻度で継続される見込みであり、プロジェクト期間内はプロジェクトの投入の効果は損なわれないと考えられる。

４－２－３　有効性への促進要因

上述したとおり、プロジェクトでは現場の寄生虫病対策を担う県や郡の保健人材合計 156 名に対してマラリア及び寄生虫病対策に関する研修を提供している。このことは対象疾患の予防対策に貢献することが期待されるものだが、研修を通してマラリア疑い患者サンプルを南部のマラリア侵淫地域から収集するネットワークの構築につながった。また、研修の実施を通して県や郡の保健局との信頼関係が醸成されたことで、フィールド調査を実施する際などは県保健局、郡保健局が積極的に調査に協力し、円滑なフィールド調査の実施につながっている。これらのことは、プロジェクトの有効性を高める促進要因として認められる。

また、CMPE 及び WHO ラオスとの面談時に、プロジェクト（JICA 専門家および IPL 研究者）はマラリア対策、寄生虫病対策を実施する上で重要なデータや科学的知見、研究成果を提供する重要なパートナーであるとの認識を示し、特に IPL で活動する JICA 長期専門家（NCGM 研究者）は IPL の代表として、保健省や WHO 等の開催する各種会議等のメンバーとなり、情報提供や技術的アドバイスを行っている。このような信頼関係、協力関係が構築されたことは、プロジェクトの研究成果がラオスの感染症対策に反映されるような環境を構築したと読み換えられるため、本件もプロジェクトの有効性を大きく促進させた一因として認識される。

４－２－４　有効性に対する阻害要因

中間レビュー時点で本プロジェクトの有効性を阻害するような事象は観察されていない。

４－３　効率性

中間レビュー調査時点でのプロジェクトの効率性はおおむね高い。

４－３－１　プロジェクト活動の進捗管理

本プロジェクトの日本側実施機関である NCGM や琉球大学、東京大学はプロジェクト開始前から IPL や NIOPH と共同研究を実施していたことから、プロジェクト開始時には既に協力関係はおおむね確立していた。特に IPL においては NCGM が導入していた機器等を使用してプロジェクト開始当初から実験室作業が開始されている。研究機器・実験用試薬類をラオス国内へ輸入する際の R/D に基づく無税通関許可をラオス政府から得るのに想定以上の時間（2 ～ 4 カ月）を要したケースがあったが、中間レビュー調査までに研究室のセットアップは終了している。

また、「実施プロセスの検証」の項で示したとおり、IPL の寄生虫学研究室はラオス－日本合同研究室として運営されており、本プロジェクトのチーフ・アドバイザー（NCGM 部長）

が研究室長（the Head of Laboratory）、JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が研究室管理者として主体的に研究活動、研究室の運営管理を行っている。IPL では週に 1 回の研究室長会議が実施されており、研究成果の共有や運営管理等が IPL 全体で確認されている。

このように、プロジェクトは初年度から円滑に研究活動が実施され、有効性に示したとおり既にいくつかの科学的知見や研究成果が得られている。他方、特にマラリアに関しては南部 4 県と中部 1 県（サワナケット県）からマラリア疑い患者からの血液サンプルを定期的に収集するシステムが構築され、これまでに約 2 万件が IPL の検体ライブラリに登録されている。このことにより、流行状況や耐性遺伝子変異の分布の解析などの分析がより精度高く実施できるが、現在の IPL 寄生虫学研究室のマンパワーだけでは処理が困難な状況となった。中間レビュー調査時点では検体の一部を保健省の公式な承認を得た IPL と NCGM 間の MTA に基づいて NCGM に移送し、その目的のために技術補助員を雇用して分析処理を進めている。プロジェクトの後半はマラリアの集団遺伝学的手法を用いた遺伝子構造の時空間的解析など高度な研究が予定されている。また、タイ肝吸虫症罹患率低下に向けたポジティブ・デビエンスに基づく介入も検討されており、限られた期間ですべての予定されたプロジェクトの研究活動を完了するには、これまでに増して厳格な進捗管理が求められる。

４－３－２　提供された機器及び材料の有効利用

使用目的や環境によって使用頻度に差はあるが、導入された研究機器等はプロジェクトの活動のために使用されており、維持管理も適切に実施されていることが確認されている。

４－３－３　本邦研修で獲得した知識・技能の有効利用

これまでに3名[19]のラオス若手研究者（ジュニア・サイエンティスト1名及び技術補助員2名）が日本の研究機関で短期の研修を受講した。獲得した知識や技術はプロジェクトの研究活動に使用されている。また、CMPE の行政官がプロジェクトの長期研修として琉球大学大学院博士課程でマラリア制圧のための疫学のテーマで研究を行っており、プロジェクト期間終了までに博士の学位取得を目指している。このようなラオスの若手研究者、行政官は、将来のラオスにおける感染症対策を行政、研究の面からリードする人材となることが期待できる。

また、プロジェクトでは特に地方部の感染症対策担当行政官や医療従事者の能力強化の必要性の認識から、合計 156 名に対して研修を通した寄生虫病診断にかかわる技術移転を実施した。中間レビューの現地調査では、研修実施によって検査にかかわる手技の向上などの正の変化も聞き取られている。

４－３－４　外部リソースとの連携

（1）WHO など他の開発パートナー機関との連携

特にラオスにおけるマラリアや他の寄生虫病対策は、保健省主導の下で WHO や国連児童基金（United Nations Children’s Fund：UNICEF）などの開発パートナー機関、IPL や LOMWRU などの研究機関が協力して進められている。対策の方向性などを検討する際

[19] うち 2 名は JST 予算で NCGM に派遣されたため、JICA 技術協力プロジェクトの枠組みでの本邦研修参加者は 1 名（技術補助員 1 名分）と計算されている。

には WHO による世界的、西大西洋地区の方針を考慮する必要もあり、プロジェクトは WHO と積極的に情報交換・提供を継続している。

(2) マラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出キットの現場適用性及び運用性の検証

これまで示してきたとおり、マラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法は、LAMP 法の基本特許を所有している栄研化学株式会社が開発した「Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit」（DNA 抽出キット及び検出機器も含む）を本プロジェクトの研究や県の検査施設での補助診断法として使用している。プロジェクトは同社より 5 台の検出機器を調達し、保健省と協議の上で中間レビューまでに IPL、CMPE、ルアンパバーン県、サワナケット県、チャンパサック県の SMPE に導入した。なお、同キットは製品として完成しており試験結果の信頼性は十分担保されているが、市販はまだされていない。プロジェクトは同キットの現場での適用性や運用性を検証し、栄研化学株式会社と情報共有している。本件は保健省も承知しており、むしろ、従来法である顕微鏡法や免疫クロマトグラフ法に基づく RDT よりも顕著に検出感度の高い LAMP 法の導入の期待は高かった。

４－３－５　効率性に対する促進要因

プロジェクト開始当初は、マラリア研究のための検体収集をフィールド調査で実施していたが、特に流行しているマラリア原虫の分布解析などを行うために十分な検体数を収集することができなかった。しかしながら、上述したような 156 名の地域のマラリア対策に従事する保健人材への研修提供を通して、全国的な検体収集ネットワークが構築されたことで、効率よく検体収集を行うことが可能となった。

このことは効率的な検体収集という観点から、プロジェクトの有効性だけでなく、効率性に対する促進要因としても整理できる。

４－３－６　効率性に対する阻害要因

上記「プロジェクトの進捗管理」で記載したとおり、日本から移送した研究機器や実験用試薬をラオスに持ち込むために R/D で合意されている無税通関許可を政府から取得するのに数ヶ月を要したケースが多く認められた。特に使用期限の短い試薬については、ラオス国内で実験に供することのできる期間が短くなるような弊害も生じている。このことによりプロジェクト成果達成には重大な影響は生じなかったが、共同研究活動の円滑な実施は若干阻害されたと考えることができるため、本件は効率性への阻害要因として整理できる。

IPL は保健省、財務省などの関係省庁に改善を訴えてきたが、中間レビュー調査時点では改善が認められていない。IPL の他の研究室（ラオス−フランス合同研究室、ラオス−ルクセンブルグ合同研究室など）でも同じ問題を抱えており、本件は在ラオス日本大使、フランス大使、ルクセンブルグ大使も参加した IPL 年次総会でも議題とされている。特にプロジェクト後半は重要な解析作業が予定されていることから、プロジェクトは保健省等の関係機関と具体的な対策について検討することが求められる。

４－４　インパクト

プロジェクトの実施によって、以下に示す正のインパクトが確認または期待されている。

４－１－１　想定される上位目標達成の可能性

SATREPS では上位目標の設定は必ずしも必要とされていない。しかしながら、SATREPS は研究成果の社会実装を強く意識した事業であることから、ここでは「プロジェクトを通して獲得した寄生虫学的研究にかかわる知識、技術が維持・向上される見込みがあるか」及び「創出された研究成果に基づいて策定されたラオスのマラリアや他の寄生虫病対策にかかわる政策・対策が実際に実行される見込みはあるか」を想定される上位目標として、その達成見込みについて検討する。

(1) プロジェクトを通して獲得した寄生虫学的研究にかかわる知識、技術が維持・向上される見込みがあるか

「実施プロセスの検証」で示したとおり、IPL 寄生虫学研究室はラオス−日本合同研究室として、本プロジェクトの日本側実施機関である NCGM の研究者が主体的に研究室のマネジメントやプロジェクトの運営管理を行っている。本プロジェクトでは将来的にラオス人だけで寄生虫病学研究室の機能を維持・向上できるようなラオス人研究者の人材育成を行うことを強く意識して、共同研究活動を実施している。しかしながら、同研究室のラオス人スタッフは 2 名のジュニア・サイエンティストと 2 名の技術補助員であり、何れも経験の浅い若手研究者といえる。同研究室には、日本の大学で博士号を取得した研究員が活動しているが、NIOPH の所属であり、週に二・三日程度の頻度で IPL にて研究活動を行っている。特にプロジェクトの後半では、これまで収集した検体、実施した基礎解析の結果に基づいて、より高度な解析を実施することが見込まれており、これらの若手研究者の研究者としての知識・経験は大きく向上することが見込まれる。しかしながら、遺伝子検出法開発のためのプライマー設計や集団遺伝学的解析技術、その他プロジェクトの後半で予定されている高度な解析技術については、数年で身につけることが困難である。したがって、プロジェクト期間終了後にラオス人研究者だけで寄生虫学研究室の機能を維持、向上することはプロジェクト期間内では困難であると考えられる。

しかしながら、現在、本プロジェクトの日本側メンバーである琉球大学にラオス人研究者 2 名[20] が博士課程と修士課程で学んでおり、プロジェクト期間内にそれぞれ博士号及び修士号の取得を目指して本プロジェクトの研究に関連するテーマで研究を行っている。これらの人材は将来のラオスの感染症対策をリードする行政官・研究者となることが期待される。また、本プロジェクトの日本側実施機関の NCGM はプロジェクト開始前から IPL と共同研究を継続しており、中間レビュー時での面談調査でも、ラオス人研究者の長期的な人材育成の必要性からも、プロジェクト期間終了後も何らかの形で IPL での共同研究を継続したいとの意向を示している。また、本プロジェクトの日本側研究機関は 2003 年に設立された「ラオス保健研究日本コンソーシアム」に参加しており、NIOPH 内に事務所を有している。このコンソーシアムは共同研究による研究成果の創出だけでなく、ラオス

[20] 1 名が本プロジェクトの長期研修（博士課程）として、もう 1 名が文部科学省の枠組みでの修士課程への留学である。

人研究者、行政官、医療従事者などの人材育成も目的としていることから、長期的視点に立ったラオス人研究者の育成がプロジェクト終了後も継続されることが見込まれる。

(2) 創出された研究成果に基づいて策定されたラオスのマラリアや他の寄生虫病対策にかかわる政策・対策が実際に実行される見込みはあるか

「有効性」で示したとおり、IPL で活動する JICA 長期専門家（NCGM 研究者）は IPL 寄生虫学研究室スタッフとして、保健省や WHO 等の主催するマラリアや寄生虫病対策にかかわる会議に出席し、研究成果の共有や専門家として技術的なアドバイスなども適宜行っており、2016 年 1 月に保健省によって発表された「マラリア制圧及び撲滅に向けた国家戦略計画 2016－2020」の作成には、JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が IPL の代表としてアドバイザリーメンバーとして参加している。中間レビュー調査以降には 2018 年に「マラリア予防・診断ガイドライン」の改訂が予定されており、プロジェクトで得られた新規知見や研究成果に基づいて改訂には技術的アドバイスがなされる見込みである。

メコン住血吸虫症については駆虫薬の集団投与などの対策が奏功し、近年の患者数は大きく減少している。プロジェクトは調査地域の感染中間宿主の情報を管轄する県保健局、郡保健局にフィードバックすることを予定しているが、研究成果に基づいた政策、対策の提案につながるかは、中間レビュー調査以降に保健省や WHO などの関係機関と議論が必要である。

また、タイ肝吸虫症については、プロジェクトは分子疫学的研究成果や DNA 検出技術を利用しながら、タイ肝吸虫非感染状態維持に向けた社会科学的研究を開始しており、プロジェクトの後半ではポジティブ・デビエンスの観点での介入試験の実施を検討している。介入効果が確認できれば対策案として保健省等の関係機関に提示できるが、プロジェクト期間内に介入効果測定をするには効果判定のための指標を慎重に設定する必要があるとともに、厳密な工程管理も必要となる。また、プロジェクト期間終了後にプロジェクトで提案する対策（介入）が保健省等の関係機関によって実施されることを想定した場合、介入の手順や効果判定などの実施方法を説明するガイドライン等が必要となるが、必要なリソース（人材やコストなど）の情報を取りまとめておくことも考慮する必要がある。

４－４－２　その他の正のインパクト

(1) マラリア流行状況の医用昆虫学的研究に対する技術的貢献

IPL 医用昆虫学・疾病媒介生物学研究室（ラオス–フランス共同研究室 2）は、マラリア流行地域 8 県で媒介蚊の分布状況に関する調査・研究を行っている。2012 年 1 月の IPL 開所以降、本プロジェクトの日本側研究実施機関である NCGM は IPL に対して技術的協力を継続しており、本プロジェクト開始後も同研究室に対して JICA 専門家として IPL 訪問の機会を捉えて、特にマラリア媒介蚊の DNA 解析に関する技術移転を行った。技術移転は実験主義だけではなく、解析にかかわる条件検討や得られたデータの解釈なども行っており、訪問機会以外にも必要に応じて電話や E メール等を用いて協力は継続されている。

このことによって、同研究室はマラリア媒介蚊の種の同定及び媒介蚊のマラリア原虫感染率に関する研究を遺伝疫学的に実施できるようになった。このような IPL 内の研究室の

共同研究によって、合計 1,515 匹のマラリア媒介蚊の個体ごとのマラリア原虫 DNA 解析を行ったところ、38 匹（2.5%）が陽性を示した。この結果をヒトの感染状況と合わせて解析したところ、媒介蚊のマラリア原虫感染率とヒトの感染率に正の相関関係が示唆された。なお、本研究成果は 2015 年 10 月に開催された LNHRF において本プロジェクトのラオス人カウンターパート研究者により報告された。今後は本研究成果を研究論文として取りまとめ、国際専門誌に投稿することを見込んでいる。

マラリアをはじめとするベクター媒介病や人獣共通感染症研究・対策を効果的に実施するためには One Health のコンセプトの下、このような分野横断的な研究協力が世界的にも求められていることから、今後もこのような協力関係にさらに新たな知見や研究成果の創出が見込まれる。また、本プロジェクトの研究成果は既に一流の国際専門誌に発表されており、今後もより重要な知見、研究成果が重要な国際誌を通じて発表されることが強く期待されている。また、本プロジェクトの研究者が有している国際的な感染症対策にかかわるネットワーク（パスツール研究所の国際ネットワーク、世界基金マラリアテクニカルレビューパネルのメンバー等）を活用し、本プロジェクトの成果が広く国際的に発信されることが見込まれている。

(2) IPL 内研究室間協力の促進

「３－３実施プロセスの検証」で示したとおり、ベクター媒介病や人獣共通感染症対策、研究には One Health の観点から分野横断的な共同研究の実施が必要であることから、IPL も研究室間の共同研究を奨励しており、毎週 1 回の研究室長会議（所長、副所長及び各研究室長）が各研究室の研究進捗や成果の共有を行っている。

具体的には、IPL は 2017 年 1 月から 1 年間の予定でアメリカ政府の財政支援の下で「Bio-Lao プロジェクトⅡ」を開始する予定であり、同プロジェクトはラオス中部のカムアン県において第 1 フェーズで参加していたアルボウイルス及び新興ウイルス疾患研究室（ラオス–フランス共同研究室 1）及び医用昆虫学・疾病媒介生物学研究室（ラオス–フランス共同研究室 2)、ワクチン予防可能疾病研究室（ラオス–ルクセンブルク共同研究室）に本プロジェクトが支援する寄生虫学研究室（ラオス–日本共同研究室）が加わる形で、分野横断的な疫学研究を実施する予定である。

このように IPL では研究室長会議や上述したような共同プロジェクトの実施によって分野横断的研究の促進が図られており、プロジェクト後半だけでなく協力期間終了後も本プロジェクトの研究に基づいた研究の広がりが見込まれており、それに伴う新たな研究成果や人材育成等も大いに期待できる。

(3) プロジェクトで行った技術研修による大規模検体収集体制の確立

活動 1-2-1 で示したとおり、プロジェクトは特に地方部の感染症対策担当行政官や医療従事者の能力強化の必要性の認識から、合計 156 名に対して研修を通した技術移転を実施した。結果として本プロジェクトで行うマラリア研究に必要な検体が流行地域の広範囲の医療施設から定期的に収集できる体制が確立し、多くの手法による詳細な解析に加え、時系列解析が実施できるようになった。

このように、マラリア研究における大規模な検体収集体制は中間レビュー調査までに確

立しており、プロジェクト期間終了後も同体制が維持されれば、他の感染性疾患のみならず、非感染性疾患の検体収集も可能となり、本プロジェクトで構築した体制を活用した他分野の研究に活用されることも期待される。

(4) 他の医療施設等への研修講師派遣

上述したようなプロジェクト活動の一環として実施した研修活動に加え、IPL はラオス政府の依頼によりラオスの軍病院スタッフや防衛省軍保健局疾病予防研究所に対してバイオセーフティ・セキュリティや感染性疾患サーベイランスシステム強化、ベクター媒介病の予防・診断・治療、医用昆虫学等のテーマで研修を開始している。IPL 寄生虫学研究室（ラオス–日本共同研究室）は今後、ベクター媒介病の中の寄生虫病に関する講義と実習を担当する予定である。

このような取り組みは、将来的にラオス全体の感染症対策の効果的な実施に資するものとして、将来のインパクトを期待できるプロジェクトの貢献と考えることができる。

(5) 日本人若手研究者（大学院生）の育成

本プロジェクトでラオス人若手研究者の人材育成がプロジェクトの成果の一つとなっているが、日本の実施機関である東京大学や琉球大学は多くの大学院生が本プロジェクトの研究活動に参加している。そのうち 5 名（東京医科歯科大学 1 名、東京大学 2 名、琉球大学 2 名）は JST もしくは AMED の支援でラオスでのフィールド調査や IPL での研究活動に参加しており、本プロジェクトが日本の若手研究者育成の場としても活用されている。

４－４－３　負のインパクト

本事業の実施に起因する負のインパクトは、中間レビュー調査時点において確認されていない。

４－５　持続性

プロジェクトによって生み出された便益の自立発展、自己展開は中間レビュー調査時点においても一定程度見込まれる。

４－５－１　政策的、制度的側面

「妥当性」の項でも述べたとおり、ラオスにおいてマラリアや寄生虫病対策の保健政策上の重要性は「第 8 次保健セクター開発 5 カ計画 2016－2020」でも明記されていることから、プロジェクト期間終了後もその重要性が維持される見込みである。特にマラリアに関しては 2025 年までの熱帯熱マラリアの撲滅、2030 年までのすべての型のマラリアの撲滅に向けて保健省は WHO など様々なパートナー機関との取り組みを強化しており、根拠に基づく対策策定に向けた本プロジェクトが提示する研究成果はプロジェクト期間終了後も政策的重要性は維持されると見込まれる。

他方、本プロジェクトでマラリア診断のための LAMP 法に基づく DNA 検出法をラオスのマラリア研究および臨床検査サービスに導入した。メコン住血吸虫症およびタイ肝吸虫症についても、LAMP 法による DNA 検出法の開発は技術的にはおおむね終了している。マラリアにつ

いては、これまでの研究成果から非症候性マラリアや薬剤耐性遺伝子変異の分布など、今後のマラリア撲滅に向けて政策や対策を検討するために重要な研究結果が創出されることが見込まれる。メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症についても集団駆虫後の非感染状態の維持に効果的な介入を提示することが見込まれることから、プロジェクトはこのような様々な研究成果を具体的にラオスの保健政策や具体的な対策に適用させるかについて、保健省等の関係機関と協議を開始することが望ましい。

４－５－２　財政的側面

プロジェクトの研究活動は、日本も含めて一般的には組織独自の研究予算のみで実施することは不可能で、競争的研究資金など外部組織からの支援を獲得するための継続的な努力を行う必要がある。そのため、中間レビュー調査時点で研究継続のための財政的持続性を評価することは困難である。しかしながら、プロジェクトの後半では JICA 専門家は研究計画の策定や解析作業、結果の取りまとめと解釈をラオス人研究者とディスカッションしながら実施することで研究能力の向上を図る予定である。また、これら一連のプロセスを学術論文にまとめることで、より研究者としての能力強化が図られると考えられる。このような能力が研究者に備われば、将来的には外部の競争的資金獲得のためのプロポーザル作成能力強化につながり、財政的持続性の向上にも貢献すると考えられる。

他方、プロジェクトで開発した遺伝子検査法などが技術的に確立した場合には、標準操作手順書などの作成に加え、必要な試薬や測定コスト等を取りまとめておくことが望ましい。また、タイ肝吸虫症に関して、集団駆虫後の非感染状態維持に向けた介入法などを保健省等に提示する際は、保健省等のユーザーが介入法の適用を計画しやすくなるようリソース分析（人材、教材、コストなど）の情報も実施ガイドライン等と併せて準備しておくことが必要である。

４－５－３　技術的側面

上記の財政的持続性でも示したとおり、プロジェクトの後半では特にラオス人研究者の研究者としての能力強化を念頭に置いて研究活動が進められる見込みである。将来の社会実装に向けてさまざまな研究成果が創出されると期待されるが、研究者として最終的には英文で学術論文として取りまとめる能力が備わることが必要である。研究者能力の向上は長期的視点で実施する必要があり、「インパクト」の項でも示したとおり、日本側研究機関はさまざまな方法でプロジェクト期間終了後も共同研究を継続する意思を示しているが、ラオス人研究者もマラリアや寄生虫学を含む関連分野の学術論文を多く読み込むとともに、英語力強化に向けた努力を日常的に実施することが求められる。

他方、研究活動や根拠に基づいた対策を行うには、地域医療を担う県や郡の保健局、医療施設の機能強化が必要である。プロジェクトはそのような認識から、特に南部の県を中心に検査技術向上のための研修を実施し、年に 1 回の頻度でリフレッシャー研修をプロジェクト期間終了まで継続することを予定している。このような研修をプロジェクト期間終了後も継続する必要があるかについては保健省等の関係機関と協議し、必要に応じてプロジェクト期間終了までに引き継ぎを完了しておくことが求められる。

４－５－４　総合的持続性

中間レビュー調査時点では本事業の持続性を正確に推測することは困難であるが、以上に示した理由により、プロジェクト期間終了までに本プロジェクトの持続性が担保されることは一定程度見込まれる。

４－６　結論

プロジェクトは中間レビュー調査時点までに、関係省庁や下部組織とともに実施体制を確立し、開発機関とのネットワークを醸成した。これら関係機関とのスムーズなコミュニケーション及び協力は、プロジェクトを前へと進め、さまざまな成果を生み出している。

マラリアについては、地方の医療従事者へ技術研修を提供した。その結果としてプロジェクトは数多くの検体を収集し、さまざまな研究が進捗し、重要な知見や研究成果が得られている。メコン住血吸虫症及びタイ肝血吸虫症研究の基礎的技術開発はおおむね完了している。

今後より高度な研究成果を創出し、学術雑誌へ投稿されることが期待される。また、これらの研究を通じて若手研究者育成も進められている。

以上より、プロジェクトの「妥当性」は高く維持されており、「有効性」「効率性」「持続性」もおおむね高いことが確認された。また、プロジェクトは中間レビュー調査時点で多くの正のインパクトを創出しており、将来のラオスのマラリア、寄生虫病対策への貢献も期待できる。

第５章　提言と教訓

５－１　提言

中間レビューの結果に基づき、以下のとおり提言する。

(1) プロジェクトに対して

・プロジェクトが開発した試験法の標準化

プロジェクトが開発したDNA検出法が技術的に確立した際には、プロジェクトは測定コストや試薬などの情報も併せてSOP等を作成することが求められる。

・ラオスにおけるマラリア診断のためのLAMP法によるDNA検出法の適用

中間レビュー調査時点では、「Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection kit」がマラリア診断の補助診断法としての使用が開始されたところである。しかしながら、新規診断法等を実際の臨床医療に適用させるには、LAMP法によるDNA検出法がラオスにおいてマラリア診断のための「公定法」として認証される必要があり、プロジェクトは認証を受けるに必要な臨床性能を評価するためのデータの蓄積を継続する必要がある。プロジェクトは、保健省に対して承認審査に必要な情報の提供を行うことが求められる。

・マラリア非症候性キャリアや薬剤耐性遺伝子変異モニタリングのための能動的サーベイランスシステムの構築

これまでのプロジェクトの成果から、ラオスにおいてマラリア非症候性キャリアや薬剤耐性遺伝子変異をモニタリングするための能動的サーベイランシステムを実施する必要があることが強く示された。これに伴い、必要な品材や資機材、費用などを考慮に入れた能動的サーベイランシステムの実施システムについて、JICA専門家はCMPEと協議することが求められる。

・タイ肝吸虫症対策のための介入

タイ肝吸虫症対策について、プロジェクトが介入試験の実施を計画する場合には、厳密な工程管理を行うことが求められる。また、プロジェクトは残りの期間で介入効果を測定できるような指標を慎重に決定する必要があるとともに、保健省の実施する集団駆虫のタイミングも考慮して介入の実施時期を決定する必要がある。また、介入効果が確認された場合には他の地域への適用も考慮されると考えられることから、プロジェクトは具体的な実施計画を作成する際に必要なリソース情報（粉剤、資機材、運用コスト等）を保健省に提供することが求められる。

・メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の診断のためのLAMP法によるDNA検出法の活用

メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の診断のためのLAMP法によるDNA検出法がプロジェクトで開発されている。保健省や県保健局が特定の地域で実施している流行状況調査のための能動的サーベイランスにおいては、それらの寄生虫病診断に顕微鏡法が使用されている。顕微鏡法の感度、特異度は低いため、もしLAMP法によるDNA検出法が能動的サーベ

イランスに適用されれば、より正確な流行状況の測定に貢献すると考えられる。したがって、プロジェクトはこれらの検査法を具体的にどのように活用するかについて保健省と協議することが求められる。

・プロジェクトのアドボカシーと PR 活動

マラリアや他の寄生虫感染症の制圧及び撲滅のための住民意識の向上やコミュニティ動員を促進するために、プロジェクトはプロジェクトの研究で得られた知見や成果の効果を促進することを念頭に、アドボカシーや PR 活動を強化することが推奨される。

・ラオス人若手研究者の能力開発

プロジェクトはこれまでも既にラオス人若手研究者の能力開発に取り組んできた。プロジェクトは利用できる予算や時間を考慮に入れながら、このような努力を継続することが重要であり、そのために詳細な実施計画を作成することが求められる。プロジェクトがラオス人若手研究者育成計画を作成する際には、国費交換留学制度など利用可能なさまざまな制度の活用も考慮することが求められる。

・PDM の改定

中間レビュー調査チームは、PDM の「プロジェクトの要約」や指標を適切に本来の共同研究のコンセプトと一致させる必要性があることを確認した。プロジェクトは、円滑なプロジェクト管理のために PDM を改定することが求められる。

(2) 保健省に対して

・研究機器や試薬等に対する無税通関措置のための承認に係る状況の改善

研究機器や試薬等を日本からラオスに移送する際に、R/D に規定されている無税通関措置に関してラオス側当局の承認手続きに想定以上の時間を要している。特にいくつかの試薬では使用期限の短いものがあり、通関で一定期間留め置かれることで、ラオス国内で利用できる有効期限までの期間が短くなった場合もある。プロジェクトはこれまでも保健省や財務省などの関連省庁に対して改善を訴えてきたが、中間レビュー調査時点では状況に改善は認められていない。よって、保健省はこのような状況の改善に向けて中間レビュー調査後に早急に対処することが強く求められる。

・研究で得られた知見や成果の政策や対策への活用や適用

本プロジェクトは SATREPS の枠組みで実施されていることから、プロジェクトの達成事項（研究で得られた知見や成果、共同研究メカニズム、人材育成など）が政策や対策の策定に具体的に適用、活用されることが、ラオスのマラリアや他の寄生虫感染症の制圧・撲滅にかかわる関係当局（特に保健省）に対して強く推奨される。

(3) ラオス人若手研究者に対して

・国際的競争力向上に向けた更なる自己研鑽

ラオス人若手研究者が国際的競争力を獲得するためには、自助努力により最新の科学的研

究に触れることが重要である。この実現に向け、ラオス人若手研究者はより多くの英文学術論文を読むことや、ジャーナルクラブ（抄読会)、新しい科学技術の情報収集、将来の博士の学位取得機会の検索など、自己研鑽を積むことが勧められる。

５－２　教訓

プロジェクト開始当初はマラリア疑い患者サンプル収集をフィールド調査で実施していたため、さまざまな分析を実施するために十分な数を収集することができなかった。他方、プロジェクトは効果的なマラリア、寄生虫病対策を行う上で地方の保健行政官や医療従事者などの保健人材の能力強化の必要性の認識から、寄生虫学に関する技術研修を合計 156 名の保健人材に対して実施した。この研修を通してプロジェクトと地方の保健人材の信頼関係が醸成され、副産物として大規模なマラリア疑い患者検体を効率的に収集できるネットワークの構築につながった。また、コミュニティ住民に対するフィールド調査を実施する際にも、県保健局や郡保健局の協力により、円滑にフィールド調査が実施できている。

このように、特にプロジェクト活動を行う上で部外者の協力が必要となることが想定される場合は、現地の文化・環境を考慮に入れながら、本格的なプロジェクト活動の開始に先立って信頼関係が得られるようなコミュニケーションを行うことが重要であると考えられる。

付　属　資　料

協議議事録（Minutes of Meetings：2016 年 12 月 16 日署名）

MINUTES OF MEETINGS
BETWEEN
JAPANESE MID-TERM REVIEW TEAM
AND
THE AUTHORITIES CONCERNED OF THE GOVERNMENT OF THE LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC
ON THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION
FOR
THE PROJECT FOR DEVELOPMENT OF INNOVATIVE RESEARCH TECHNIQUE IN GENETIC EPIDEMIOLOGY OF MALARIA AND OTHER PARASITIC DISEASES IN LAO PDR FOR CONTAINMENT OF THEIR EXPANDING ENDEMICITY

The Japanese Mid-term Review Team (hereinafter referred to as "the Team") organized by Japan International Cooperation Agency (hereinafter referred to as "JICA"), headed by Dr. Kaname Kanai visited the Lao People's Democratic Republic (hereinafter referred to as "the Lao PDR") from November 27th to December 16th, 2016 for the purpose of the Mid-term Review on "The Project for Development of Innovative Research Technique in Genetic Epidemiology of Malaria and Other Parasitic Diseases in the Lao PDR for Containment of Their Expanding Endemicity" (hereinafter referred as "the Project").

During its stay in the Lao PDR, the Team reviewed the achievement of the Project and had a series of discussions with authorities concerned of the Lao PDR for further improvement of the Project.

As the result of the study and discussions, both sides agreed upon the matters referred to in the document attached hereto.

Vientiane, December 16th, 2016

Dr. Kaname Kanai, Ph.D.
Executive Technical Advisor to the
Director General
Human Development Department
Japan International Cooperation Agency

Dr. Bouasy HONGVANTHONG, Ph.D.
Director
Center of Malariology, Parasitology and
Entomology, Ministry of Health

ATTACHMENT

Through the discussions regarding the progress of the Project with the authorities concerned of the Lao PDR and JICA experts, the Team compiled the result of the Mid-term Review as the Mid-term Review Report as the Appendix of this agreement and both the Lao PDR and the Japanese sides agreed the contents of it. The details of conclusion and recommendations are described below.

1. Conclusion

The Project established the implementation structure with related ministries and subordinating organizations, and generated the beneficial network with development partners by the time of the Mid-term Review. The communication and coordination among the Project and these related organizations put the Project forward, and generated the various research outcomes.

Concerning Malaria, the Project provided the technical training for the medical professionals in local areas. As the results of it, the Project succeeded in collecting great number of samples, proceeded various research, and obtained important findings and outcomes. Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the DNA detection methods have mostly been developed.

It is expected for the Project to generate further important research findings and outcomes, and to publish scientific papers. The Project also nurtured the Lao young researchers by working together with the JICA experts.

For these reasons, the Team observed that the Relevance of the Project is highly maintained, and the Effectiveness, the Efficiency and the Sustainability are also seemed to be high in general. Besides, the Team also found several positive impacts even at the time of the Mid-term Review; further, the achievements of the Project is anticipated to contribute the effective control of malaria and other parasitic diseases in the near future.

2. Recommendations

(1) To the Project

- Standardization of testing methods developed by the Project

  When the DNA detection methods, developed by the Project is established technically, it is required for the Project to develop the Standard Operating Procedures with the information regarding costs for measurement, reagents and so on.

- Application of the LAMP-based DNA detection method for the malaria diagnosis in the Lao PDR

  At the time of the Mid-term Review, practical use of the "*Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection kit*" had been commenced as a support method for malaria diagnosis. However, in order to apply new diagnostic methods in the clinical practices, it is necessary for the Project to continue to accumulate data to evaluate its clinical performance for gaining approval of the LAMP-based plasmodium DNA detection method as an official "*standard methods*" for malaria diagnosis in the Lao PDR. It is required for the Project to provide necessary information to the MOH for their approval review.

- Establishment of active surveillance system for the monitoring of malaria asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation

  From the results of the Project, it is strongly demonstrated that there is a need to implement active surveillance in order to monitor asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation in the Lao PDR. Accordingly, it is required for the JICA experts to discuss with the IPL and the

Center for Malariology, Parasitology and Entomology of the Ministry of Health (the MOH), with regard to the implementation system of the active surveillance system by taking human resource, materials and costs into consideration in future.

- Intervention for the control of Opisthorchiasis viverrini

  Concerning Opisthorchiasis viverrini, in case that the Project plans to implement intervention trial, strict progress management is needed. Further, indicators for measuring intervention effects should be determined carefully so that the Project can evaluate the intervention effects by the end of the project period, and the timing of intervention is also carefully determined in consideration of the timing of mass extermination that is organized by the MOH. Additionally, given that the impacts of the intervention are confirmed, the application of it to other areas will be considered. Therefore, it is required for the Project to provide necessary information about the resources (e.g. human resource, materials, operational costs and so on) to the MOH, for supporting them to build the practical implementation plan.

- Utilization of the LAMP-based DNA detection methods for diagnosing Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini

  The LAMP-based DNA detection method has been developed for Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini. Microscopic method is used for the diagnosis of the said parasitic diseases when the MOH and PHOs perform active surveillance to investigate its endemicity in specific areas. The microscopic method has low sensitivity and specificity, then if the LAMP-based DNA detection is applied for the active surveillance, it will contribute more accurate measurement of endemicity. It is required for the Project to discuss with the MOH regarding the way of its utilization.

- Advocacy and PR activities of the Project

  In order to promote the awareness and social mobilization for control of malaria and other parasitic diseases, the Project is recommended to strengthen the advocacy and public relations activities in light of enhancing the effect of project research findings and outcomes.

- Capacity development of the Lao young researchers

  The Project has already been working on capacity development of the Lao young researchers. It is important for the Project to continue such efforts in consideration of available budget and project period, and subsequently to develop a detailed plan for it. When the Project develops a plan for nurturing the Lao young researchers, the Project should consider utilizing the various schemes available, including government-sponsored exchange students and so on.

- Revision of the Project Design Matrix (PDM)

  The Team observed the necessity to adjust the narrative summary and Objectively Verifiable Indicators to align the original concept of the collaborative research properly. It is required for the Project to revise the PDM for the smooth progress management.

(2) To the MOH

- Improvement of the situation regarding the certification of tax exemption for research instruments and equipment.

  When research instruments and equipment were brought from Japan to the Lao PDR, it took longer time than expected to go through procedures for acquisition of tax exemption certificates for them from the Lao authority concerned in accordance with the Record of Discussions. Especially, some reagents with relatively short valid period had been shortened the days for expiration date since it had been kept in the customs for a certain period of time. The Project had appealed improvement to relevant ministries and agencies such as the MOH, the Ministry

of Finance; however, this situation has remained unchanged as of the time of the Mid-term Review. Therefore, it is strongly required for the MOH to cope with the problem right after the Mid-term Review.

- Translation and/or application of research findings and outcomes into policies and/or countermeasures

  Since the Project is implemented under the scheme of the Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS), practical application and/or translation of the project achievements (i.e., research findings and outcomes, research collaboration mechanisms, human research development, etc.) into making policies, countermeasures, etc. are strongly encouraged to the authorities concerned, especially for the MOH, of the control and elimination of malaria and other parasitic diseases in the Lao PDR.

(3) To the Lao Young Researchers

- Further Self-Help Endeavor to enhance International Competitiveness

  It is important for the Lao young researchers to come in touch with the advanced scientific research by themselves, in order to acquire international competitiveness. To achieve it, the Lao young researchers are advised to carry out self-help efforts further, such as reading more English papers, holding journal club, capturing novel scientific information, seeking opportunities to obtain Ph.D. degree in the future and so on.

END

APPENDIX: Mid-term Review Report

APPENDIX

MID-TERM REVIEW REPORT

ON

THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION PROJECT

FOR

DEVELOPMENT OF INNOVATIVE RESEARCH TECHNIQUE IN GENETIC EPIDEMIOLOGY OF MALARIA AND OTHER PARASITIC DISEASES IN LAO PDR FOR CONTAINMENT OF THEIR EXPANDING ENDEMICITY

UNDER THE SCHEME OF

THE SCIENCE AND TECHNOLOGY RESEARCH PARTNERSHIP FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT (SATREPS)

Japan International Cooperation Agency (JICA)

and

Authorities concerned in the Lao People's Democratic Republic

16 December 2016

TABLE OF CONTENTS

ABBREVIATIONS 3

CHAPTER 1 SCOPE OF MID-TERM REVIEW 4
1.1 BACKGROUND OF THE MID-TERM REVIEW 4
1.2 OBJECTIVES OF THE MID-TERM REVIEW 4
1.3 MID-TERM REVIEW TEAM 5
1.4 FRAMEWORK OF THE PROJECT 5

CHAPTER 2 METHOD OF THE MID-TERM REVIEW 8
2.1 FRAMEWORK OF PROJECT REVIEW UNDER SATREPS 8
2.2 METHODOLOGY OF THE REVIEW 8
2.3 FIVE EVALUATION CRITERIA 8

CHAPTER 3 PROJECT PERFORMANCE 9
3.1 INPUTS 9
3.2 ACHIEVEMENTS OF THE PROJECT 10
3.3 IMPLEMENTATION PROCESS 33

CHAPTER 4 EVALUATION RESULTS 35
4.1 RELEVANCE 35
4.2 EFFECTIVENESS 37
4.3 EFFICIENCY 40
4.4 IMPACT 42
4.5 SUSTAINABILITY 46
4.6 CONCLUSION 48

CHAPTER 5 RECOMMENDATIONS 49

ANNEXES

Annex 1: PDM version 1 (February 25, 2015)

Annex 2: Schedule of Mid-term Review

Annex 3: Evaluation Grid

3-1 Verification of Implementation Process

3-2 Five Evaluation Criteria

Annex 4: List of Interviewees

Annex 5: List of Inputs

5-1 List of Project Members

5-2 Dispatch of JICA Experts

5-3 Counterpart Researchers' visit to Japan

5-4 Training in Japan

5-5 Training in the Lao People's Democratic Republic

5-6 Provision of Equipment

Annex 6: Life cycles of malaria plasmodia, *Schistosoma mekongi* and *Opisthorchis viverrini*

Annex 7: The organogram of the Institut Pasteur du Lao

ABBREVIATIONS

AMED	Japan Agency for Medical Research and Development
CMPE	Center for Malariology, Parasitology and Entomology
DCDC	Department of Communicable Diseases Control
DHOs	District Health Offices
DNA	Deoxyribonucleic acid
GFATM	Global Fund for AIDS, Tuberculosis and Malaria
G6PD	Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase
IHR	International Health Regulation
IPL	Institut Pasteur du Lao
IRB	Institutional Review Board
JCC	Joint Coordinating Committee
JICA	Japan International Cooperation Agency
JST	Japan Science and Technology Agency
LAMP	Loop-mediated Isothermal Amplification
LLIN	Long-Lasting Insecticide-Treated Nets
LNHRF	Laos National Health Research Forum
LOMWRU	Lao-Oxford-Mahosot Hospital Research Unit
M/M	Minutes of Meetings
MOH	Ministry of Health
MOU	Memorandum of Understanding
MTA	Material Transfer Agreement
NCGM	National Center for Global Health and Medicine
ODA	Official Development Assistance
OVIs	Objectively Verifiable Indicator(s)
PCM	Project Cycle Management
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDM	Project Design Matrix
PHOs	Provincial Health Offices
RDT	Rapid Diagnostic Test
SATREPS	Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development
SMPE	Station of Malariology, Parasitology and Entomology
SOP	Standard Operating Procedure
SPR	Slide Positivity Rate
TMDU	Tokyo Medical and Dental University
UR	University of the Ryukyus
UT	The University of Tokyo
WHO	World Health Organization

CHAPTER 1 SCOPE OF MID-TERM REVIEW

1.1 Background of the Mid-term Review

Parasitic diseases such as malaria and other trematode infections (Schistosomiasis mekongi, Opisthorchiasis viverrini, etc.) put a severe burden on the socioeconomics in the Lao People's Democratic Republic (hereinafter referred to as "*the Lao PDR*"). The Government of the Lao PDR has been putting efforts to improve the situation by taking various measures such as the distribution of the Long-Lasting Insecticide-Treated Nets (LLINs) as well as the provision of anthelminthic agents with the support of development partners. However, it is considered to be an urgent need to strengthen the countermeasures based on the scientific evidences to meet the international demands, not just for the Lao PDR, for effective infectious disease control measures as well as preventing the emergence of drug resistance, which are regarded as global issues.

Accordingly, Japan International Cooperation Agency (hereinafter referred to as "*JICA*)", based on the request of the Government of the Lao PDR, commenced a 5-year technical cooperation entitled "*the Project for Development Innovative Research Technique in Genetic Epidemiology of Malaria and Other Parasitic Diseases in Lao PDR for Containment of Their Expanding Endemicity*" (hereinafter referred to as "*the Project*") form May 2014 with the Lao counterpart organizations of the Center of Malariology, Parasitology and Entomology (hereinafter referred to as "*CMPE*") and Institut Pasteur du Lao (hereinafter referred to as "*IPL*") of the Ministry of Health (hereinafter referred to as "*MOH*"), under the scheme of the Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS).

A Mid-term Review was carried out with the mission objectives for grasping the whole progress of the international collaborative research as well as the generation of research findings and outcomes at the mid-period and for review the performance of the Project, as an Official Development Assistance (ODA), from the viewpoint of human resource development, institutional functional enhancement and contribution to development subjects; further, on the basis of the review results, recommendations were provided to assure the achievement of the Project Purpose by the end of the project period.

1.2 Objectives of the Mid-term Review

The objectives of the Mid-term Review are as follows:

1) To review the interim progress of the Project and evaluate the achievement as of the time of the Mid-term Review in accordance with the five evaluation criteria ('*Relevance*', '*Effectiveness*', '*Efficiency*', '*Impact*' and '*Sustainability*') on the basis of latest version of Project Design Matrix (PDM) version 1 (Annex 1);
2) To discuss the contributing and hindering factors for the achievements of the Outputs and the Project Purpose;
3) To discuss the activity plan for the rest of the project period together with the Lao side based on the reviews and analyses of the project performances;
4) To make recommendations in order to achieve the Project Purpose by the end of the project period, and to revise the PDM as necessary basis; and
5) To summarize the results of the study in a Mid-term Review Report.

1.3 Mid-term Review Team

The review of the Project was performed by three (3) JICA members in consultation with authorities concerned in the Lao PDR. The members of the Mid-term Review Team (hereinafter referred to as "*the Team*") were indicated below.

Simultaneously with the JICA's review work, the Japan Agency for Medical Research and Development (hereinafter referred to as "*AMED*")[1], supporting research activities conducted in Japan under the framework of SATREPS, dispatched two (2) members and participated in the field survey in the Lao PDR to conduct their interim evaluation and to offer technical advices on the research activities from technical standpoint.

<The Japanese Side>

Name	Designation	Title and Affiliation	Duration of Survey
Dr. Kaname KANAI	Leader	Executive Technical Advisor to the Director General, Human Development Department, JICA	10/Dec/2016 – 17/Dec/2016
Ms. Eri FUJITA	Cooperation Planning	Staff, Health Team 4, Health Group 2, Human Development Department, JICA	10/Dec/2016 – 17/Dec/2016
Dr. Yoichi INOUE	Evaluation Analysis	Senior Consultant, Consulting Division, Japan Development Service Co., Ltd.	27/Nov/2016 – 17/Dec/2016

<AMED Mission Members>

Name	Designation	Title and Affiliation	Duration of Survey
Prof. Dr. Kiyoshi KITA	Infectious Diseases Control	Program Officer, International Collaborative Research Program, Department of International Affairs, AMED Dean, Professor, Nagasaki University, School of Tropical Medicine and Global Health	12/Dec/2016 – 16/Dec/2016
Mr. Katsumi ISHII	Planning and Evaluation	Deputy Manager, Division of International Collaboration, Department of International Affairs, AMED	10/Dec/2016 – 16/Dec/2016

The on-site review work was conducted from the 27th of November to the 16th of December 2016. This evaluation included site visits, interviews and scrutinizing various documents and data related to planning, implementation and monitoring processes of the Project (Annex 2).

1.4 Framework of the Project

The framework of the Project is described below.

1) Five (5) years from the 1st of May 2014 to the 30th of April 2019.
2) The administration system of the Project is as follows:
   - Project Director: Director of the CMPE, the MOH;
   - Project Manager: Director General of Institut Pasteur du Lao; and
   - Chief Advisor: Director/Professor of the Department of Tropical Medicine and Malaria,

[1] Affairs under the jurisdiction and authorities of the projects in the field of infectious disease control was transferred from the Japan Science and Technology Agency to AMED. The transfer took place on the 1st of April, 2015.

Research Institute, National Center for Global Health and Medicine (hereinafter referred to as "*NCGM*")

3) Project Implementers (research institutes) of the Project are indicated as follows:

The Lao side: IPL

The Japanese Side: NCGM, the University of Tokyo (UT), University of the Ryukyus (RU), Juntendo University and Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

4) Beneficiaries: the direct and indirect beneficiaries of the Project are approx. 20 scientists and health officers engaged in the development of innovative research technique in genetic epidemiology of malaria and other parasitic diseases and approx. 4 million inhabitants in the target areas, respectively.

5) The Narrative Summary of the Project:

The Narrative Summary of the Project (Project Purpose, Outputs and Activities) set in the latest PDM (version 1), authorized at the 1st Joint Coordinating Committee (hereinafter referred to as "*JCC*") held on the 25th of February 2015, is described below.

Please refer to the Annex 1 (PDM version 1) for other elements of PDM such as the Objectively Verifiable Indicators (OVIs), means of verification, the Inputs from both sides to the Project, the Preconditions and the Important Assumptions.

Narrative Summary of PDM version 1

Project Purpose	Research results based on the methods for the genetic epidemiology diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are utilized in government services such as in diseases control.
Outputs	Output 1 More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are developed and utilized. Output 2 Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini is monitored. Output 3 Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed. Output 4 Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government. Output 5 Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.
Activities	Activities under Output 1 1-1. To establish the research environment of the IPL. 1-2-1.To improve the procedure for collecting samples of patients (Plasmodium from blood and eggs from feces). 1-2-2.To separate the parasites and extract the DNAs from samples of 1-2-1. 1-3-1.To collect snails and fish (intermediate hosts) which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis. 1-3-2.To separate parasites and extract DNAs from snails and fish (intermediate hosts), which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis. 1-4.To design the specific primers to amplify the genes of each parasite, and to define the

	most appropriate condition for their amplification in PCR and LAMP methods. 1-5.To report the developed technology in conferences, papers and patents. Activities under Output 2 2-1. To collect and analyze the existing data of the MOH (on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini). 2-2. To evaluate the data collection system in each province and district in target areas. 2-3-1.To conduct population genetic analyses of collected parasites by utilizing molecular phylogenetic analyses. 2-3-2.To temporally construct eBURST diagram[2] using microsatellite markers. 2-3-3.To analyze the change of population structure of the parasite genome by cluster analysis[3]. 2-4-1.To elucidate the factors of deciding and expanding epidemics molecular epidemiologically using the obtained scientific evidences, and to report outcomes. 2-4-2.To conduct genetic epidemiological survey of human *Plasmodium knowlesi* infection which are emerging in Laos. 2-4-3. To apply Dojindo's kit for analyzing G6PD deficiency in endemic population. Activities under Output 3 3-1. To analyze the mutation of the chloroquine resistant gene (*pfcrt*), the artemisinin resistant gene (*K13*) and amino acids and their adjacent microsatellite markers flanking the gene. 3-2. To analyze the reported multidrug resistant gene mutations, and to elucidate the specific distribution of the mutation in the Lao PDR. 3-3. To search the genetic marker and to elucidate its function for clarifying the mechanism of artemisinin resistance. Activities under Output 4 4-1. To apply the developed PCR methods and LAMP methods in Activity 1 to the field stations to be compared with the existing microscopic diagnosis. 4-2. To advise appropriate action and treatment based on the above diagnostic methods. 4-3.To consider social approach for disease prevention, and to suggest health education for people. Activities under Output 5 5-1.) To provide guidance and collaborate with the researchers in the IPL according to the collaborative research plan. 5-2. To invite Lao researchers to NCGM, and to conduct collaborative researches. 5-3. To provide a series of training for the Lao researchers and technicians ranging from the basic biology to advanced molecular and genetic epidemiology in the Lao PDR. 5-4. To plan and host the trainings for administrative officers from CMPE and MOH, and to promote their capacity of building health plans and strategies. 5-5. To hold the workshop in the Laos National Health Research Forum (LNHRF) to present the outputs of research activities.

[2] eBURST diagram shows patterns of evolutionary descent among clusters of related genotypes from multilocus molecular markers, such as SNPs, microsatellite DNA loci and so on.

[3] Cluster analysis is a method to infer genetic population structure (e.g. number of ancestral lineages) using multilocus molecular markers based on Bayesian model-based approach.

CHAPTER 2 METHOD OF THE MID-TERM REVIEW

2.1 Framework of Project Review under SATREPS

Since SATREPS provides assistances to the counterpart countries through the implementation of technical cooperation project on site by JICA and the technical and financial support for research works in Japan by AMED in a collaborative manner, it is natural that review and evaluation works on site are conducted in tandem in consideration of its efficiency.

JICA, jointly with governmental organizations and/or research institutes including researchers, will review and evaluate the performance and achievement of the technical cooperation project implemented under the framework of the Japan's ODA from the viewpoint of human resource development, capacity development, and contribution to development agenda at partner countries. AMED will evaluate the whole of international joint research works from the viewpoint of research outcomes that contribute to resolve the global issues.

2.2 Methodology of the Review

The Mid-term Review was performed in accordance with the latest "*JICA Guidelines for Project Evaluation Second Edition*" and "*JICA Handbook for Project Evaluation (Ver. 1)*" issued in May 2014 and August 2015, respectively. Achievements and implementation process were assessed based on the investigation results, which are consolidated in the Evaluation Grids (Annex 3), from the aspects of the five evaluation criteria of relevance, effectiveness, efficiency, impact, and sustainability, as well as the Verification of Implementation Process.

The Team conducted surveys at the project sites through questionnaires and interviews to counterpart researchers, other related organizations, and the JICA experts involved in the Project to review the Project on the basis of the Evaluation Grids. See Annex 4 "*List of Interviewees*" for more information.

Project performances including achievement of the Objectively Verifiable Indicators (OVIs) were reviewed and analyzed in accordance with the Project Cycle Management (PCM) concept. The review work was performed by the Japanese members in consultation with the authorities concerned in the Lao PDR on the basis of PDM version 1 (See Annex 1 for more information). Finally, the Team compiled this Mid-term Review Report.

2.3 Five Evaluation Criteria

Description of the five evaluation criteria that were applied in the analysis for the Mid-term Review is given below.

Five Criteria	Description
Relevance	Relevance of the Project is reviewed by the validity of the Project Purpose and Overall Goal in connection with the government development policy and the needs in the Lao PDR. Relevance of the Project is verified on the basis of facts and achievements at the time of the Mid-term Review.
Effectiveness	Effectiveness is assessed to what extent the Project has achieved its Project Purpose, clarifying the relationship between the Project Purpose and Outputs. Effectiveness of the Project is verified on the basis of facts and achievements at the time of the Mid-term Review.
Efficiency	Efficiency of the Project implementation is analyzed with emphasis on the relationship between Outputs and Inputs in terms of timing, quality and quantity. Efficiency of the Project is verified on the basis of facts and achievements at the time of the Mid-term Review.
Impact	Impact of the Project is assessed in terms of positive/negative, and intended/unintended influence caused by the Project. Impact of the Project is verified in accordance with the necessity and possibility at the time of the Mid-term Review.
Sustainability	Sustainability of the Project is assessed in terms of political, financial and technical aspects by examining the extent to which the achievements of the Project will be sustained after the Project is completed. Sustainability of the Project is verified on the basis of extrapolation and expectation at the time of the Mid-term Review.

CHAPTER 3 PROJECT PERFORMANCE

3.1 Inputs

1) Input from the Japanese Side

The following are inputs from the Japanese side to the Project as of November 2016. See Annex 5 for more information.

Components	Inputs
Dispatch of Japanese Experts	Long-term Experts: a total of 3 Experts (1 for parasitology research and a total of 2 Project Coordinators), a total of 58 M/M (Man/Month) Short-term Experts: a total of 49 Experts, 11 M/M
Provision of Equipment	Major Items: DNA Sequencer, electrophoresis imaging system, multi-gas incubator, spectrophotometer, deep freezers, automatic electrophoresis apparatus, realtime-PCR system, etc. (JPY 67,336,06 (approx. LAK 5062,862,180 ≒ USD 642,777) [4]
Counterpart Researchers' visit to Japan	Total number: a total of 6 persons Content: Sharing the research progress and outcomes, discussion on the research plan of operation and so on. (a total of 36 days)
Training in Japan	Total number: 2 persons Content: – Training of Malaria Diagnosis, Drug Susceptibility Test and Genetic Analysis in Japan (1 person at Department of Tropical Medicine and Malaria Research Institute, NCGM for 1 month) – Epidemiological study of malaria in Lao PDR (1 person at UR for 3 years)
Local costs	Overseas activities costs: JPY 46,418,020 (approx. USD 443,098)[5] – JFY2014: JPY 8,779,000 – JFY2015: JPY 19,644,000 – JFY2016: JPY 17,995,020 (estimated amount)

2) Input from the Lao Side

The followings are inputs from the Lao side to the Project as of the November 2016. See details on the Annex 5.

Components	Inputs
Allocation of Counterpart Researchers	A total of 20 persons 1. Nine (9) from the MOH; 2. Eight (8) from the IPL; 3. Two (2) from the CMPE and 4. Three (3) from the NIOPH
Facilities, Equipment and Materials	1. Counterpart personnel; 1 as Project Director from MOH, 1 as Project Manager from IPL, IPL researchers and staff for Malaria and Other Parasitic Diseases, and Provincial CMPE staff. 2. Laboratory space in IPL area. 3. Existing research instruments, equipment and/or devices in IPL and provincial CMPE 4. Available data, information and/or specimens related to the Project
現地活動費 Local costs	Utilities for the project office and total amount of IPL burden other than JICA's share of cost sharing, equipment maintenance management etc. USD 75,915 (approx. LAK 597,949,133≒JPY 7,952,723)[6]

[4] JICA Conversion rates in November 2016 was used for currency conversion.

[5] JICA Conversion rates in November 2016 was used for currency conversion.

[6] JICA Conversion rates in November 2016 was used for currency conversion.

3.2 Achievements of the Project

1) Achievements of the Project Activities

Achievements of the Project Activities under Outputs are as indicated below.

Output 1 More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini[7] are developed and utilized.	
Activities	Performances
1-1. To establish the research environment of the IPL.	● By February 2015, all the instruments and equipment stated in the equipment list in the record of discussions (R/D) were introduced to the IPL Parasitology Laboratory and other laboratories where the project experiments are performed. Also, as a measure to counter power interruptions and spike noise, the uninterrupted power-supply systems (UPSs) were installed to the DNA sequencer and PCR machines. ● Following arrival of the project long-term experts, the existing apparatus, etc. was utilized to immediately begin work on collecting samples and conducting DNA diagnoses, etc. ● Also, the project vehicle was procured and used for conducting field investigations from August 2016. Before the arrival of the vehicle, and also when more than two vehicles are needed, rental cars have been utilized. ● Due to malfunctioning of the air conditioning system (temperature control and air pressure control) at the Lao-Japan Parasitology Laboratory, repair work was carried out under the project budget in March 2015. ● Thanks to assistance from the Embassy of the United States in Lao PDR, the Pathogen Asset Control System (PACS) was introduced to the IPL at the end of August 2015. All the researchers at the IPL received introduction training and follow-up training, and information on all bio-samples including the samples collected in the Project are placed under integrated control. ● Summing up, it can be said that the research environment necessary for conducting the project research activities was established in general by the time of the Mid-term Review. ● As a future issue, it is urgently necessary to address the rain leaks that are occurring at the Lao-Japan Parasitology Laboratory and other laboratories where the project experiments are supposed to be done.
1-2-1. To improve the procedure for collecting samples of patients (Plasmodium from blood and eggs from feces).	● From June 2014 to November 4, 2016, a total of 15 field investigations (malaria investigations or Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini investigations) were implemented together with the IPL, the CMPE and Provincial Health Offices (PHOs). In these investigations, samples (blood and feces) were collected from the participants (students and residents). Moreover, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, intermediate host organisms were also collected. Also, malaria vector mosquitoes were collected and analyzed in a joint effort with the IPL Medical Entomology & Biology of Disease Vectors Laboratory (Lao-French Joint Laboratory). ● From June 2015, the Project started to train a total of 156 health personnel in 5 provincial hospitals (PHs), 16 district hospitals (DHs), 119 health centers (HCs) in high endemic areas as well as the administrative officers in the Station of Malariology, Parasitology and Entomology (hereinafter referred to as "*SMPE*") in the 5 southern provinces in the Lao PDR with a filter paper-based blood sample collection methods for malaria-suspected patients. ● The Project field investigations alone did not provide sufficient number of malaria positive samples to conduct analysis. Moreover, when conducting field investigations with province and district

[7] Life cycles of malaria plasmodia, *Schistosoma mekongi* and *Opisthorchis viverrini* are explained in the Annex 6.

	officials, since it is indicated that capacity building is required for conducting diagnoses and investigation of parasitic diseases including malaria, the above activities contributed to establishing the setup and building capacity for collecting malaria blood samples and incidental patient information on an ongoing basis over widespread areas where malaria is endemic. ● As of November 2016, blood samples had been obtained from 18,976 suspected malaria cases in the field investigations and sampling at medical facilities. Moreover, according to the 2015 CMPE data, the 5 southern provinces accounted for 94% of all malaria cases in Lao PDR. ● As of November 2016, feces samples had been obtained from a total of 1,861 community residents in districts with endemic Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, Champasak (south), and Khammouan (center) and Champasak respectively. ● Moreover, in the joint investigation of Schistosomiasis mekongi that was implemented by the CMPE of the Lao MOH (the Department of Communicable Diseases Control: DCDC) and the Project (JICA experts and IPL staff members) from September to October 2016, blood samples were obtained from 1,754 community residents. Hereafter, it is scheduled to investigate the existence of persons with Schistosomiasis mekongi positive antibodies by using ELISA method and clarify the situation regarding endemicity. This schistosomiasis investigation is being implemented in a joint effort by the Lao MOH and the Project (i.e., JICA experts and IPL scientists) under the initiative of the WHO with the aim of eliminating Schistosomiasis mekongi from Lao PDR.
1-2-2. To separate the parasites and extract the DNAs from samples of 1-2-1.	● Out of the 18,976 samples that had been obtained from suspected malaria patients in the field investigations and sampling in endemic areas up to February 2016, 6,541 samples were subjected to DNA sampling at the IPL. It is scheduled to carry out DNA extraction while adding more samples in future, however, due to the sheer volume of samples, some analysis work is being conducted at the NCGM for the samples transferred from the IPL to the NCGM based on the material transfer agreement (MTA) between the said two institutes. ● Concerning 943 feces samples that were obtained in the investigation of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in Champasak Province, they were transferred to the Tokyo Medical and Dental University (TMDU) for DNA extraction based on the MTA exchanged between the IPL and the TDMU, and this work was already finished by the time of the Mid-term Review. Moreover, the TDMU is also investigating the conditions for DNA extraction from the feces samples (see Activity 1-4).
1-3-1. To collect snails and fish (intermediate hosts) which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis.	● In Khong District, Champasak Province, 1,975 snails (*N. aperta*) responsible for transmitting *Schistosoma mekongi* as the first intermediate host were collected in the investigation of April 2015, and another 3,115 were collected in that of April 2016. ● There are three types of *N. aperta*: α, β and γ; however, as a result of extracting DNA from the snails collected in April 2015 and carrying out molecular phylogenetic analysis, it was found that the sampled *N. aperta* comprised only the γ strain. ● At the time of the Mid-term Review, no *Opisthorchis viverrini*-transmitting snails (*Bithynia siamensis*) had been sampled; however, from 2017 onwards, it is intended to conduct sampling in Khammouan Province and Champasak Province, conduct observation for evidence of infections under microscope, extract DNA and carry out identification of strains of *B. siamensis*. ● Ten (10) fishes responsible for transmitting *O. viverrini* as the secondary intermediate host were purchased at a local market in Nhommalath District, Khammouan Province in June 2016, and *Opisthorchis viverrini*-like metacercaria (encysted larva) were sampled from the scales of 5 of these.
1-3-2. To separate parasites and	<Concerning Schistosomiasis mekongi>

extract DNAs from snails and fish (intermediate hosts), which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis.	● Under the initiative of the TMDU, a method for extracting *S. mekongi* DNA was developed. The 5,090 snails that were sampled in the project activity 1-3-1 were transferred to the TMDU based on the MTA signed between the IPL and the TMDU, and the TMDU had completed the *S. mekongi* DNA extraction work by the time of the Mid-term Review. Meanwhile, in light of the contents of the research, it is considered not to be necessary at the current time to conduct isolation of *S. mekongi* from the transmitting snails in light of the contents of the research. <Concerning Opisthorchiasis viverrini> ● Similarly, at the TMDU, it was confirmed that DNA extraction can be performed from parasite eggs that are harder than DNA extraction from metacercaria by the alkali-boiling method, and a postgraduate student of the UT learned this technique and used it to establish a DNA extraction system at the IPL. This method was used to extract DNA of *O. viverrini* from its metacercaria that were sampled from the transmitting fish scales indicated in Activity 1-3-1 in June 2016. Moreover, investigation based on a social research approach (positive deviance) to addressing Opisthorchiasis viverrini was conducted under the initiative of the UT, and the Lao MOH (DCDC) and CMPE in cooperation with province and district officials (see Activity 4-3 for details), and DNA was extracted from the materials attached to cutting boards used in households situated in endemic areas. It is scheduled to implement sampling of *O. viverrini* transmitting snails (first intermediate hosts) (*B. siamensis*) and DNA extraction after the Mid-term Review.
1-4. To design the specific primers to amplify the genes of each parasite, and to define the most appropriate condition for their amplification in PCR and LAMP methods.	<Concerning malaria> ● Concerning malaria, the NCGM designed the primer targeting the mitochondrial genome *cox1* gene, which can effectively identify the species of malaria, and determined the reaction conditions of PCR. ● Concerning the LAMP method for detecting malaria DNA, the Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit (including DNA extraction kit and detection instruments) developed by *EIKEN CHEMICAL CO., LTD.* was introduced to the CMPE and provincial health offices in Luang Prabang, Savannakhét, and Champasak. <Concerning Schistosomiasis mekongi> ● Concerning Schistosomiasis mekongi, the TMDU established the conditions for extracting DNA from feces samples, designed the LAMP primer targeting the mitochondria genome *cox1* gene, and established the reaction conditions of LAMP, and in doing so it established the method for detecting the DNA of *S. mekongi*. Whereas the conventional Kato-Katz microscopic detection method using feces samples showed a positive rate of 0.36% (1/274), the LAMP method developed in the Project displayed a positivity rate of 2.92% (8/274). It can thus be said that the LAMP-based DNA detection method has an 8-fold higher detection sensitivity than that of the conventional microscopic method. ● On using the above detection method to investigate the DNA of *S. mekongi* from the *N. aperta* sampled from Khong District, Champasak Province, it was estimated that the *S. mekongi* infection rate in the 3,115 snails sampled in the April 2016 investigation was at least 0.5%. The *S. mekongi* infection rate of *N. aperta* that was found in this investigation was reported at the Lao National Health Research Forum held in October 2016. <Concerning Opisthorchiasis viverrini> ● Concerning Opisthorchiasis viverrini, the TMDU examined the conditions for extracting DNA from feces samples, designed the LAMP primer set targeting *cox1* gene in the mitochondria genome, and examined the LAMP reaction conditions. As a result, whereas the positive rate in the microscope method was 76.5%, it was far lower by the LAMP-based detection method at 47.6%. Concerning the reasons why, it is possible that the DNA extraction conditions or the LAMP primer sequence were inappropriate. Also, it is possible that many of

	the samples that were diagnosed as Opisthorchiasis viverrini contained parasitic eggs of a similar type to it. Following the Mid-term Review, it is supposed to further examine conditions in light of these causes. ● Using the above LAMP-based detection method currently being developed, an attempt was made to detect the DNA of *O. viverrini* from the *O. viverrini*-like metacercaria (encysted larva) sampled from the scales of the transmitting fish purchased at a local market in Nhommalath District, Khammouan Province, where Opisthorchiasis viverrini is endemic, in June 2016; however, the results were all negative. Similarly, an attempt was made to detect the DNA of *O. viverrini* from materials attached to cutting boards used in the kitchens of 62 households in the same area, and the results were again negative. ● After the time of the Mid-term Review, it is planned to try detecting *O. viverrini* DNA from other regions of transmitting snails and fish (especially the muscle) while at the same time making improvements to the LAMP-based detection method. Also, in order to confirm whether *O. viverrini* metacercaria are attached to cutting boards, it is planned to dissect freshwater fish infected with *O. viverrini* on cutting boards in the laboratory and immediately afterwards try detecting its DNA by the LAMP-based detection method from the cutting board surfaces.
1-5. To report the developed technology in conferences, papers and patents.	● Concerning the *S. mekongi* and *O. viverrini* DNA detection methods that were developed in the Project, presentations were given at the Japanese Society of Parasitology, the Helminth Research Society, and the Lao National Health Research Forum. ● At the time of the Mid-term Review, a scientific article on these results is being prepared for publishing international journals.

Output 2 Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini is monitored.	
Activities	Performances
2-1. To collect and analyze the existing data of the MOH (on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini).	<Concerning malaria> ● The CMPE and the IPL Parasitology Laboratory have constructed a cooperative relationship that allows them to always receive data on province-separate and district-separate patient reports and fatalities managed by the MOH. ● As a result of analyzing the data, it was revealed that the ratio of Falciparum malaria is going down every year, while the ratio of Vivax malaria is increasing. For example, whereas in 2009 Falciparum malaria accounted for 99% and Vivax malaria 1%, in 2012 Falciparum malaria accounted for 83% and Vivax malaria 17%, and in 2015 Falciparum malaria accounted for 40%, Vivax malaria 58% and the mixed infection rate was 2%. ● However, it is possible that, due to the fall in the number of Falciparum malaria patients brought about by the introduction of artemisinin-based combination therapy (artemisinin + lumefantrine is used in the Lao PDR.), which is extremely effective for treating Falciparum malaria, the ratio of Vivax malaria patients has seemed to be increased comparatively. Having said that, with the introduction of the Vivax malaria rapid diagnosis kits to the Lao PDR. In 2011, enabling the implementation of accurate diagnoses, and a suspected decline in competition in hosts (humans and mosquitoes) due to the decrease in Falciparum malaria, the absolute number of persons infected with Vivax malaria is actually increasing. <Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini> ● Concerning Opisthorchiasis viverrini and Schistosomiasis mekongi, it was found, after the commencement of the Project, that the Lao MOH has no mechanism for collecting patient information and that the

	MOH's data is extremely limited. However, it was also found that the data investigated and collected as research by a team of the National Institute of Public Health (NIOPH) is reliable. This NIOPH, together with Japanese research agencies like the NCGM and the UR, has implemented joint research since before the start of the Project and shares information on these parasitic diseases. Moreover, it became a project counterpart agency officially in August 2015. ● From 2016, under the initiative of WHO, WHO and the Lao MOH (DCDC and CMPE) are jointly implementing steps aimed at eradicating Schistosomiasis mekongi. In a conference on countermeasures that was jointly staged by the Lao MOH and WHO on May 7, 2016, a team representing the IPL Parasitology Laboratory and the NIOPH gave technical advice to the Lao MOH concerning investigation areas, investigation methods and inspection methods concerning prevalence monitoring based on data obtained in the Project. According to the investigation procedure that was decided in this conference, the Lao MOH and the IPL Parasitology Laboratory conducted a joint investigation between September and October 2016. This investigation was intended to survey infection conditions prior to implementation of mass extermination with *praziquantel* at the end of the year, and it is also scheduled to implement such a joint investigation based on the monitoring methods established on the basis of the technical advice given at the above conference from 2017 onwards.
2-2. To evaluate the data collection system in each province and district in target areas.	<Concerning malaria> ● The reporting of malaria patient information is established as a part of health information system managed by the Lao MOH. Specifically, monthly reports are made by health centers to the Lao MOH via district health offices followed by provincial health offices. It is becoming possible to report from provincial health offices to the Lao MOH by means of electronic data (web-based or email); however, since paper-based reporting is still used from health centers to district health offices and from district health offices to provincial health offices, it is suggested that problems will arise in the reliability of reported values depending on the season and conditions at medical care facilities, etc. <Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini> ● As was indicated in the Activity 2-1, concerning Opisthorchiasis viverrini and Schistosomiasis mekongi, the Lao MOH has no mechanism for collecting patient information and the MOH's data is extremely limited and its reliability cannot be fully guaranteed. The only existing information that can be trusted is information that has been collected for research by the NIOPH. ● The target sites for project research were selected based on data of the NIOPH.
2-3-1. To conduct population genetic analysis of collected parasites by utilizing molecular phylogenetic analyses. 2-3-2. To temporally construct eBURST diagram using microsatellite markers. 2-3-3. To analyze the change of population structure of the parasite genome by cluster analysis. using multilocus molecular markers based on Bayesian model-based approach.	<The Intention or purpose of Activity 2-3> ● In the Activity 2-3, in order to elucidate spatio-temporal changes in the genetic structure of pathogen and vector populations, 1) molecular phylogenetic analysis, 2) eBURST analysis, 3) cluster analysis and 4) other analyses where needed are implemented. ● Through clarifying spatio-temporal changes in the genetic structure in this way, it will be possible to grasp prevalence and analyze future prevalence trends; moreover, through evaluating genetic diversity of the population, it will be possible to determine the effectiveness of countermeasures and influx of pathogens from other areas. <Concerning malaria> ● Concerning malaria, from the commencement of the Project till the present time, project activities have mainly focused on establishing efficient methods for collecting samples. At the time of the Mid-term Review, work mainly concerns investigating endemicity and trends of Falciparum malaria and Vivax malaria and the situation regarding asymptomatic malaria cases, etc. the Project is supposed to implement

	analysis using the above three analysis methods in earnest after the Mid-term Review. <Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini> ● Concerning Schistosomiasis mekongi, very few positive samples were obtained as of the time of the Mid-term Review. So far, out of 943 feces samples investigated in the Project, only 4 and 8 samples were found to be positive by the microscopic diagnosis and the LAMP-based DNA detection method, respectively. Therefore, these findings strongly indicate that it is difficult to implement population genetic analysis of Schistosomiasis mekongi. ● Concerning Opisthorchiasis viverrini, the LAMP-based DNA detection method is currently being established, however, genetic population analysis based on those results is not being implemented as of the time of the Mid-term Review. However, since the *Opisthorchis viverrini* infection rate in endemic areas is estimated to be 88%, this strongly points to the need for the project researchers, related government officials and other stakeholders to examine the significance of analyzing spatio-temporal changes in genetic structure when conducting genetic population analysis.
2-4-1. To elucidate the factors of deciding and expanding epidemics molecular epidemiologically using the obtained scientific evidences, and to report outcomes.	<Concerning malaria> ● As a result of the malaria investigation and research conducted in the Project, it was found that in particular there are more *Plasmodium vivax* asymptomatic carriers than expected. Specifically, among samples that are diagnosed as negative in conventional microscopic testing and immunochromatography-based rapid diagnostic tests (RDT), many samples were diagnosed as positive when using genetic diagnostic techniques such as PCR-based method, and LAMP-based method. The concrete results of analysis on asymptomatic carriers were as follows: – On investigating 778 residents of Savannakhét Province from August to September 2013, the RDT found 17 persons to be positive, whereas, the PCR-based method found 48 persons to be positive. Also, from this investigation it was found that plasmodium-infected individuals tend to be accumulated in the same families; – In May 2015, as a result of surveying 381 residents in Attapeu Province, whereas 3 persons and 5 persons were diagnosed as positive in microscopic examination and RDT, respectively, the number was 42 by the PCR-based method (5 persons positive for Falciparum malaria and 37 positive for Vivax malaria). However, all these subjects were asymptomatic carriers (average body temperature was 36.7℃). Also, it became clear that there are significantly more carriers among males than females (36 males as compared to 6 females); – In February 2016, as a result of surveying 694 residents in Champasak Province, whereas 30 persons were diagnosed as positive in RDT, the number was 85 by the PCR-based method (23 persons positive for Falciparum malaria, 54 positive for Vivax malaria, and 8 had mixed infection). Moreover, as was also true in the above case, all these subjects were asymptomatic carriers. Also, the majority of carriers were adult males; and – Summing up, the following points became clear from the activities: 1) The PCR-based DNA detection method has far higher detection sensitivity than that in conventional microscopic diagnosis as well as even immunochromatography-based RDT; 2) Approximately 80% of Falciparum-infected persons were asymptomatic; 3) Since most of the infected persons are adult males, it is inferred that risk of infection increases in cases of behavioral activity where there is a great chance of being bitten by malaria mosquitoes (for example, wood cutters who spend long hours in forests, etc.); and 4) Moreover, since these are asymptomatic carriers, who it is inferred contribute to the diffusion of malaria parasites as reservoir carriers without ever receiving treatment for malaria,

	they represent a major obstacle to combatting malaria in the Lao PDR. ● These research findings are constantly shared with the Lao MOH. Moreover, the findings obtained from the 2013 investigation in Savannakhét Province were published in an international journal[8] in 2016. <Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini> ● Concerning Schistosomiasis mekongi, six (6) habitats of *Schistosoma mekongi*-transmitting snails were identified in the investigation implemented in Khong District, Champasak Province in April 2016, and snails infected with *Schistosoma mekongi* were confirmed in 3 of these. These findings were fed back to local residents during the joint investigation conducted with the MOH from September to October 2016. ● Concerning Opisthorchiasis viverrini, it has been clarified that raw consumption of infected freshwater fish is a determining factor in infection. In epidemiological investigations implemented in endemic areas, since an 88% positive ratio has been revealed by microscope examination even in areas where population extermination is conducted by *Praziquantel* once a year, there is room to discuss the need for examining spreading factors. ● For these reasons, it is considered difficult to elucidate the determining as well as spreading factors of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini based on the "*molecular epidemiological approach*".
2-4-2. To conduct genetic epidemiological survey of human *Plasmodium knowlesi* infection which are emerging in Laos.	● The generally recognized human infectious malaria plasmodia comprises 4 types: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, and *P. ovale*; however, in recent years in Southeast Asia, there have been reported cases of human infections, sometimes leading to fatalities, of *P. knowlesi* – a species that usually only infects long-tailed macaques. In particular, since there are increasing opportunities for coming into contact with *P. knowlesi* due to deforestation, ecotourism and so on in recent years, there is a strong need to investigate cases of human infection of *P. knowlesi* in the Lao PDR. ● Utilizing the primer for amplifying the DNA of *P. knowlesi* designed by the NCGM in the past, screening by the PCR-based detection method was performed on 299 samples collected in Savannakhét Province in 2014; however, no positive samples were detected. The Project is supposed to investigate other previously collected samples after the Mid-term Review. As of November 2016, the Project collected approximately 20,000 samples which will be subjected to identification of Plasmodium species including *P. knowlesi* during the Project period. ● Apart from the Project, a previous malaria investigation implemented by Japanese researchers in Savannakhét Province has demonstrated a possibility of the human infection of *P. knowlesi*. Accordingly, it is expected that, through conducting the investigation on the above mentioned 20,000 samples, a very first case of human infection case(s) by *P. knowlesi* in the Lao PDR can be reported by the end of the project period.
2-4-3. To apply Dojindo's kit for analyzing G6PD deficiency in endemic population.	● As was indicated in the Activity 2-1, the number of persons infected with Vivax malaria is increasing in the Lao PDR in recent years. Vivax malaria includes hypnozoites that lie dormant inside human liver cells and cannot be eradicated by ordinary antimalarial drugs. Since infected persons continue to relapse until the hypnozoites are eradicated, it is necessary to administer *Primaquine*, which is deemed effective for addressing hypnozoites. However, since there is a danger of an adverse event[9] (acute hemolytic anemia) being triggered when administering *Primaquine* to persons with G6PD deficiency, it is

[8] Pongvongsa T. et al. *Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhét province, Lao PDR*. Malar J. 2016;15:508.

[9] Assuming the normal G6PD blood enzyme activity to be 100%, G6PD deficiency is defined as 60% or lower.

	desirable to conduct a G6PD enzyme activity examination before *Primaquin* administration. Since epidemiological information with regard to G6PD deficiency has been limited in the Lao PDR currently, the Project intends to clarify such epidemiological information and present data that will become the basis for creating guidelines of a treatment for eradicating Vivax malaria. ● In February 2016, a G6PD deficiency investigation targeting 690 residents was performed in endemic areas of malaria in Champasak Province. As a result, it was found that 62 persons (9%) had G6PD deficiency, and these 62 persons had enzyme activity in the range of 20-60%. According to the WHO definition, this is classified as "*moderate deficiency*". Concerning the samples that were found to have G6PD deficiency, analysis of G6PD genetic mutation, which impacts the degree of severity, was also implemented. An important finding from this analysis has been that Viangchan mutation V871M, which is categorized as Class II (second highest) in the WHO categories of severity, was observed in 25 out of the 62 samples diagnosed as having G6PD deficiency. ● Similar investigations will be performed by the Project in Savannakhét Province in November 2016 and Ponsari in the north in February 2017, and findings will be compiled as data to provide the basis for compiling the abovementioned guidelines. Activities will be conducted with a view to eventually creating guidelines together with the Lao MOH, WHO and other related agencies.

Output 3 Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.	
Activities	Performances
3-1. To analyze the mutation of the chloroquine resistant gene (*pfcrt*), the artemisinin resistant gene (*K13*) and amino acids and their adjacent microsatellite markers flanking the gene.	<Concerning chloroquine-resistant malaria> ● As a result of investigating mutations and arrangement of the gene (*pfcrt*) responsible for chloroquine resistance in the NCGM, genetic mutation on the *pfcrt* gene was observed in 26 out of 33 (79%) of malaria plasmodia collected in Savannakhét Province in 2010. In contrast, the said mutation was observed in 17 out of 48 (35%) of malaria plasmodia collected in Savannakhét Province in 2013. Since chloroquine resistant Falciparum malaria is common in the Mekong area, the use of chloroquine for the treatment of Falciparum malaria is prohibited in the Lao PDR. There were signs that, due to the decline in chloroquine selection pressure, it is possible that chloroquine-sensitive (wild type) Falciparum malaria plasmodia had increased, however, there are still not enough samples to draw any definite conclusions. It is scheduled to widen the investigation area and increase the number of samples from hereafter. ● Concerning heterozygosity (genetic diversity) of the microsatellite markers flanking the chloroquine resistant gene of *pfcrt*, the plasmodium populations that were collected in Savannakhét Province in 2010 and 2013 were analyzed according to resistant types and sensitive types in the NCGM. As a result, it was found that the resistant plasmodium populations tended to have less genetic diversity than that of the sensitive plasmodium populations. Moreover, no changes were observed in genetic diversity between 2010 and 2013 in both the resistant and sensitive plasmodium populations. When the genetic diversity of the species is impaired, this reduces adaptability to environmental changes and increases the risk of extinction of the species. In other words, the above results suggest that in return for acquiring chloroquine resistance, the resistant plasmodium population has genetically become more vulnerable with respect to environmental changes. Moreover, through monitoring the genetic diversity of such resistant as well as sensitive plasmodium populations, it is considered that the monitoring results can be used to measure the effects of malaria countermeasures overall. <Concerning artemisinin-resistant malaria>

	• As a result of investigating mutations and arrangement of the *K13* gene responsible for artemisinin resistance in the NCGM, no genetic mutation was observed in the 33 Falciparum malaria plasmodia that were collected in Savannakhét Province in 2010. However, mutation[10] was observed in 3 out of the 47 (6%) malaria plasmodia collected in Savannakhét Province in 2013. These results were presented in the New England Journal of Medicine[11] as achievements of the joint research of the Institut Pasteur International Network. • On investigating 58 samples obtained in Savannakhét Province from October 2015 to April 2016, the Project found that 2 samples (3%) demonstrated the substitution of cysteine with tyrosine on the 580th codon of the *K13* gene (C580Y), which is responsible for artemisinin resistance to Falciparum malaria. • On the contrary, the Project found that as high as 89 (63%) out of 142 samples, collected in the same period in Salavan province, possessed the same mutation (C580Y) on the *K13* gene. • It will be necessary to carefully monitor the effects of treatment based on ACT (artemisinin-combined treatment) in Salavan Province from now on.
3-2. To analyze the reported multidrug resistant gene mutations, and to elucidate the specific distribution of the mutation in the Lao PDR.	• From the results of the Activity 3-1, in Savannakhét Province, whereas artemisinin-resistant gene of *K13* was found to be a wild type with no genetic mutation in the 2010 survey, in 2013, mutations were observed in 6% of samples, while in the survey conducted from 2015 to 2016, C580Y, which is responsible for artemisinin resistance, was confirmed in 3% of samples. This suggests the possibility that either mutation occurred in the *K13* gene or that there was an influx of plasmodium populations with C580Y mutations from other areas. • On the other hand, in the survey that was implemented in Salavan Province adjacent to Savannakhét Province, C580Y mutation of the *K13* gene was observed in 63% of samples, which was significantly higher than that of 3% in Savannakhét Province. This suggests that there is already a high distribution of *K13* gene mutation, which is responsible for artemisinin resistance, in Salavan Province, and that there is a wide disparity in the level of distribution between the 4 southern provinces. • It will be necessary to continue doing more detailed analyses in order to elucidate the endemicity and distribution of multidrug resistant gene mutations hereafter. From the results of the Activity 3-1 and the Activity 3-2, it is strongly demonstrated that there is a need to implement active surveillance on multidrug resistant genes in the Lao PDR. • Following the Mid-term Review, it is scheduled for the Project to conduct analysis of resistant genetic mutations of plasmodium DNA against other anti-malarial drugs such as Mefloquine, Atovaquone, etc., which are frequently used as preventive medications of travelers.
3-3. To search the genetic marker and to elucidate its function for clarifying the mechanism of artemisinin resistance.	• The Project is supposed to do research activities to search genetic marker(s) and to elucidate its function for clarifying the mechanism of artemisinin resistance after the Mid-term Review.

Output 4 Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government.

[10] One (1) out of 3 artemisinin-resistant sample demonstrated the substitution of leucine with methionine on the 488th codon of the K13 gene (L488M), whereas other 2 demonstrated the glutamine synonymous substitution coded by CAA or CAG.

[11] Ménard D. et al. for the K13 Artemisinin Resistance Multicenter Assessment (KARMA) Consortium. *A Worldwide Map of Plasmodium falciparum K13-Propeller Polymorphisms*. N Engl J Med 2016;374:2453-64

Activities	Performances
4-1. To apply the developed PCR methods and LAMP methods in Activity 1 to the field stations to be compared with the existing microscopic diagnosis.	<Concerning malaria> ● In the Project, "*Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit*" (including DNA extraction kit and detection instruments) developed by *EIKEN CHEMICAL CO., LTD.* has been used as the LAMP method for detecting malaria DNA, and has been confirmed to have far higher sensitivity than that of the conventional microscopic method as well as immunochromatography-based DNA detection test kit. ● In August 2016, the JICA long-term experts (the NCGM researchers) stationed in the IPL conducted training (theory and practice) on malaria diagnosis by the LAMP method for 4 staff members of the IPL Parasitology Laboratory. After that, the LAMP-based DNA detection method for malaria diagnosis was introduced to the CMPE of the MOH. First, 2 days of training (theory and practice) were conducted at IPL for 3 CMPE laboratory staff members, then equipment was installed in the CMPE and practical training was resumed on the third day. ● Following introduction of the LAMP-based DNA detection method for malaria diagnosis to the CMPE, the method was introduced to the SMPE of the PHOs in Luang Prabang Province, Savannakhét Province and Champasak Province between August and September 2016. Introductory training was conducted for 2 days in each case: the training was attended by 5 staff members in Luang Prabang, 5 members in Savannakhét Province, and 3 members in Champasak Province. At the time of the training in Luang Prabang and Champasak Province, on conducting DNA detection by the newly introduced LAMP-based method on samples from malaria-suspected patients that had previously been found to be negative using the conventional microscopic testing and rapid diagnostic tests (RDT), the samples from both provinces were found to be positive only in the LAMP-based method. ● In September 2016, the Project Chief Advisor (JICA expert / Department Director of the NCGM) conducted confirmation and follow-up of implementation conditions together with the staff of the IPL Parasitology Laboratory at the SMPE of the Luang Prabang PHO. ● Moreover, since the PCR-based plasmodium DNA detection method for malaria diagnosis, which was established in the Activity 1-4, requires dedicated measuring instruments, primer and other reagents, it is only utilized for research in the Project; however, it is unrealistic to consider its introduction to provincial SMPEs at this time. <Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini > ● As was indicated in Activity 1-4, the Project developed a LAMP-based DNA detection method for diagnosing Schistosomiasis mekongi, which demonstrated approximately 8 times higher sensitivity than that of conventional microscopic testing, and this has already been used in the project research. The prevalence of Schistosomiasis mekongi in the Lao PDR has only been found in Champasak Province. The LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria has been introduced to this province, and it is technically feasible at the time of the Mid-term Review to also transfer the detection method for diagnosing Schistosomiasis mekongi. ● On the other hand, it is not possible to compare sensitivity and specificity of the LAMP-based DNA detection method for diagnosing Opisthorchiasis viverrini with the conventional microscopic testing method because the results from microscopic method are suspected to be unreliable. Therefore, development work including primer design and examination of the LAMP reaction conditions is likely to be continued even after the time of the Mid-term Review. ● Incidentally, development of the PCR-based DNA detection methods for diagnosing Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini and introduction to the SMPEs of PHOs is not being conducted in the

	Project for the same reasons as described above concerning the PCR-based Plasmodium DNA detection method for malaria diagnosis.
4-2. To advise appropriate action and treatment based on the above diagnostic methods.	<Concerning malaria> ● The malaria diagnosis and treatment guidelines in the Lao PDR only specify microscopic testing and rapid diagnostic tests (RDT) for diagnosis. At the time of the Mid-term Review, results obtained by the LAMP-based DNA detection method are being used as reference information. However, it is obvious that this method has far higher sensitivity than that of the abovementioned conventional methods, a fact that is recognized by related agencies such as the MOH and WHO Laos office. Actually, when introducing the LAMP-based DNA detection method to the SMPEs of PHOs, the recipient agencies were selected upon holding discussions with the Lao MOH and WHO Laos office. As a result, the method was introduced not only to malaria-endemic areas in the center (Savannakhét Province) and south (Champasak Province) but also, from the viewpoint of covering the entire country, the north of the country (Luang Prabang province) where there have been few reported cases. In addition, it has also been introduced to the CMPE, which is the implementing agency for parasitic investigation and countermeasures of the MOH. Following the Mid-term Review too, samples will continue to be gathered and the superiority of the clinical performance of the method will be proved. The Project is planned to continue measures aimed at establishing this a "*Standard Method*" for the diagnosis of malaria in the Lao PDR when the guidelines undergo future revision. ● On the other hand, as was indicated in the Activity 3-1 and the Activity 3-2, the spatio-temporal situation regarding the endemic of malaria plasmodia and the mutation of resistance-responsible genes in the Lao PDR is being elucidated. The research findings and outcomes obtained up to the time of the Mid-term Review suggested that the necessity of continuous implementation of active surveillance in order to monitor the situation of asymptomatic carriers (reservoir) of malaria plasmodia, on top of further political efforts for the containment, effective treatment methods, etc. Following the Mid-term Review, the Project is planned to continue implementing this research and to implement even more advanced analyses with a view to linking this to eventual policy recommendations. <Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini > ● Concerning Schistosomiasis mekongi, the number of infected persons has recently been greatly reduced owing to the once-a-year implementation of mass extermination with *praziquantel*. On the other hand, concerning Opisthorchiasis viverrini, against the background of a raw fish-eating culture, there have been reports of infection rates as high as 88%. ● Accordingly, concerning these two parasitic diseases, it is thought that mainly the socio-medial approach described in Activity 4-3 below will be adopted while supplementing this with the scientific research approach using the methods developed in the Project.
4-3. To consider social approach for disease prevention, and to suggest health education for people.	● In all the field surveys conducted in the Project until now, information provision and advice for preventing infections have been given to the participating residents via the survey explanations and when obtaining their consent (informed consent) for providing samples. Current status concerning the social-scientific approach to persons with the project target diseases is described below. <Concerning malaria> ● Concerning prevention of malaria, long-lasting insecticide-treated nets (LLINs) have already been distributed to almost all households in endemic areas under assistance by the Global Fund for AIDS, Tuberculosis and Malaria (GFATM).

	However, in the Project field survey (active surveillance) of May 2015, asymptomatic carriers were found in 11% of tested persons and there were found to be significantly more carriers among males than females ($p<0.05$). On investigating samples from febrile patients at health facilities in October that year, there was confirmed to be a significantly higher ratio of malaria-positive cases among males in the 15~39 age group ($p<0.05$), and the trend of infection was higher among persons engaged in forestry and agriculture who spend long hours outdoors in forests, etc. It is inferred that many laborers engaged in forestry, etc. in the Lao PDR have greater opportunities to get infected; however, since it is also likely that such forest laborers include (unlawful) foreign workers who are not registered, the malaria infection rate among those workers is not clear. Following the Mid-term Review, the Project is scheduled to hold discussions with the Lao MOH, WHO and other related agencies concerning the social-scientific approaches to preventing infection among forest workers. In parallel with this, under the initiative of the UR, the Project has started examination into the effectiveness of snowball sampling as a means of gaining access to unregistered forest workers. <Concerning Schistosomiasis mekongi > ● In the Schistosomiasis mekongi survey implemented in Khong District, Champasack Province in April 2016, it was observed that the locations where *S. mekongi*-infected snails were collected tend to be close to the houses of residents from whom *S. mekongi* DNA was detected by the LAMP-based method. In Champasack, infection rates have been largely reduced owing to the implementation of mass extermination once a year; however, the lifecycle of *S. mekongi* is sustained when infected persons conduct bathing, washing and toilet activities around rivers close to their homes, and findings suggest that community residents can be re-infected in some cases after the once-a-year implementation of mass extermination with *praziquantel*. Following the Mid-term Review, the Project is planned to compile a risk map based on survey of the distribution of *S. mekongi*-infected snails, and to give residents information on the places where it is safe to use water. <Concerning Opisthorchiasis viverrini > ● In the survey of Opisthorchiasis viverrini conducted in Khammouan Province in August 2015, 605 out of 687 tested community residents (88.1%) were found to be positive in microscopic diagnosis. The once-a-year implementation of mass extermination with *praziquantel* is carried out in this district too; however, it was clearly shown that many residents become re-infected due to the local diet habit of eating raw fish. On the other hand, in the survey implemented under the initiative of the UT in September that year, it was found that cutting boards tend to be more hygienically managed after cutting fish in the households of non-infected persons compared to those in the households of infected persons. This suggests the possibility of a "*positive deviance*" for the prevention of infection. Following the Mid-term Review, consideration is given to conducting tests to prove the existence of *O. viverrini* on cutting boards, as well as implementing intervention from the viewpoint of "*positive deviance*" geared to sustaining conditions of non-infection following mass extermination with *praziquantel*. Also, it is necessary to continue implementing health education and so on for the prevention of infections in light of the dietary culture of the Lao PDR. Since the MOH is implementing the School Health Program, the Project is also supposed to take the approach targeting young people via this program.

Output 5 Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.	
Activities	Performances
5-1. To provide guidance and collaborate with the researchers in the IPL according to the collaborative research plan.	● In accordance with the collaborative research plan, the JICA long-term experts and the JICA short-term experts conduct guidance for staff of the IPL Parasitology Laboratory (one scientist who also has the post of the NIOPH, 2 junior scientists and 2 technicians) through working together for the project activities under the Output 1 to 4. By the time of the Mid-term Review, activities primarily consisted of construction of the research implementation setup and basic experiments and analyses of a massive collection of samples; however, in 2016, two (2) IPL staff members presented the results of their research findings and outcomes at the National Research Forum under guidance by the JICA experts. Following the Mid-term Review, the JICA experts (researchers) is intended to increase opportunities for scientific discussion with a view to building the capacity of the staffs as "*scientists*" concerning research planning and interpretation of results. Further, training for preparing abstract as well as presentation slides in English and presentation practice will be actively implemented under the guidance of the JICA experts. ● From Japan too, postgraduate students have participated in the Project as research members[12], and they have participated in the field surveys and joint research at IPL together with the young Lao scientists. This has been mutually stimulating for both sides.
5-2. To invite Lao researchers to NCGM, and to conduct collaborative researches.	● So far, three (3) Lao scientists have been invited to the NCGM to take part in joint research. Specifically, one (1) IPL Lao technician from December 2013 to February 2014, one (1) junior scientist in May 2014, and one (1) IPL Lao technician in February 2016 have conducted research on molecular parasitology at the NCGM. Also, it is scheduled to invite one (1) Lao junior scientist from the IPL to the NCGM in February 2017 to take part in training and joint research. ● One (1) staff member of the NIOPH of the MOH entered the UR master's course as a government-sponsored foreign student from October 2015 with the support of the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in Japan, and is anticipated to acquire a master. degree in the field of malaria epidemiology, which is related to the project research field by September 2017. ● In addition, one (1) staff member of the CMPE of the MOH entered the UR to conduct study from April 2016. This person advanced to the postgraduate doctoral course from October 2016 and is anticipated to acquire a Ph.D. degree in the field of malaria epidemiology, which is related to the project research field by March 2019.
5-3. To provide a series of training for the Lao researchers and technicians ranging from the basic biology to advanced molecular and genetic epidemiology in the Lao PDR.	● From the end of 2014 to September 2015, the JICA experts conducted guidance to aid the research of a master's student of the Francophone Institute for Tropical Medicine (IFMT) in Vientiane. Following her graduation in September 2015, this student became the staff of the IPL Parasitology Laboratory and has continued project research. ● In 2015, the Project conducted lectures on prevention, diagnosis and treatment of parasitic diseases for a total of 156 health personnel, 1 staff member each, from 156 selected health facilities in high endemic areas in 4 southern provinces (Salavan, Champasack, Sekong and Attapeu) and the adjacent Savannakhét Province in the central region. Lectures were also conducted on the basics of DNA and genetic diagnostic technologies (PCR and LAMP methods). ● In May 2016, the JICA long-term experts took the initiative in

[12] In the JICA technical cooperation project framework, Japanese students cannot acquire the status of experts, however, Japanese postgraduate students on short-term dispatch are conducting activities in Laos based on budget provided by the JST or the AMED.

	conducting a 1-month course on parasitology and molecular biology training by the IPL Parasitology Laboratory geared to 5 master's students of the National Health Science University. ● From October to November 2016, the Project conducted a Refresher Training Course for the 156 persons who had taken part in the training of the previous year.
5-4. To plan and host the trainings for administrative officers from CMPE and MOH, and to promote their capacity of building health plans and strategies.	● At the current time, the Project does not have any plan to conduct training for building the health policy and strategy formulation capacity of the MOH administrative officers. Concerning the control of malaria and Schistosomiasis mekongi, the JICA long-term expert (NCGM researcher) has been participating as an IPL representatives in the meetings and/or conferences for discussing countermeasures against those parasitic diseases organized by the Lao MOH and providing advice on the basis of the data, findings and outcomes gained in the Project. Particularly concerning malaria diagnosis, the JICA expert explained that there are a certain number of asymptomatic carriers that cannot be detected by the conventional microscopic method and RDT in the endemic areas, and the importance of genetic diagnostic technologies has been stressed. As a result, a simple genetic diagnostic technology (LAMP-based DNA detection method) was introduced to Vientiane (the IPL and the CMPE) and the SMPEs of PHOs, each of which covers northern, central or southern region. Also, the JICA long-term expert (the NCGM researcher) took part as the IPL representative in compilation of the National Strategic Plan for Control and Eradication of Malaria 2016-2020, which was published by the MOH in January 2016. The JICA expert gave advice based on the research findings, outcomes and his knowledge and experience as an advisory member. ● Meanwhile, seven (7) villages were selected as sentinel sites for monitoring endemicity in the MOH conferences of May and July 2016 geared to the elimination of endemic Schistosomiasis mekongi in Champasack Province, and the JICA expert gave advice on the methods for testing and field investigations. From 2016, based on advice from a Japanese advisor to the WHO Western Pacific Region Office (WPRO), it has been decided to investigate for the antibodies against *S. mekongi* in blood in addition to conducting feces investigations of community residents. However, since the Lao PDR does not have research agencies or human resources who are capable of implementing antibody testing by ELISA method for Schistosomiasis mekongi, a JICA short-term expert (a researcher of the TMDU) conducted technology transfer on the ELISA method for staff members of the IPL Parasitology Laboratory in October 2016. ● In this way, although policy and strategy building training has not been conducted for MOH administrative officers, the JICA experts have conducted various cooperation and activities geared to formulating policies and strategies in the Lao PDR. Moreover, since field activities have been conducted in cooperation with the provincial and district health officers, it is considered that capacity building has been advanced among administrative officers on the central and regional levels.
5-5. To hold the workshop in the LNHRF to present the outputs of research activities.	● In 2014, 2015 and 2016, in the annual LNHRF, a SATREPS Project session was chaired by the Chief Advisor of the Project (the Department Director of the NCGM), and the both Japanese and Lao project members presented the results of their research. ● In 2016, six (6) members including 2 young Lao scientists of the IPL and 2 Japanese postgraduate students gave presentations on the research findings and outcomes of the Project, and these were followed by lively sessions of questions and answers. ● In 2019, the final year of the Project, the Project is planning to stage a conference geared to comprehensively sharing the research outcomes of the Project.

2) Achievements of the Outputs

a) Output 1

Achievements of the Output 1 are as indicated below.

【Output 1】
More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are developed and utilized.

OVIs	Achievements
1. Both sensitivity and specificity of the newly developed diagnostic methods for malaria show more than 90%.	● The PCR-based DNA detection method for malaria diagnosis, developed by the Project, displayed enough (over 90%) sensitivity and specificity in comparison with that of conventional diagnostic methods (microscopic method and RDT). In contrast, in the case where it is assumed that the PCR method has 100% sensitivity, microscopic testing of Falciparum malaria displayed sensitivity of 20%, RDT showed sensitivity of 40%, and specificity was the same 100% in both. Also, in the case where it is assumed that the PCR method has 100% sensitivity, microscopic testing of Vivax malaria displayed sensitivity of 5%, RDT showed sensitivity of 8%, and specificity was the same 100% in both. ● Moreover, as was indicated in the Activity 4-1, "*Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit*" (including DNA extraction kit and detection device) developed by *EIKEN CHEMICAL CO., LTD.* was used in the Project, and this was confirmed to have far higher sensitivity than that of the microscopic method and the immunochromatography-based RDT.
2. The developed genetic diagnostic method for Schistosomiasis mekongi is used in 80% of samples from intermittent host snails and patients' feces, in the target areas.	● The Lao MOH has not conducted investigation of *S. mekongi* intermittent host snails. ● The sensitivity of the LAMP-based *S. mekongi* DNA detection method developed in the Project was 8 times higher than that of conventional microscopic method. At the time of the Mid-term Review, this method was being applied for the project research to investigate intermittent host snails and feces samples. ● The LAMP-based DNA detection method for malaria diagnosis has already been introduced to the PHO of Champasack Province, which is the only endemic area for Schistosomiasis mekongi in the country, since August 2016; hence, the LAMP method for diagnosing Schistosomiasis mekongi can be introduced from the technical point of view.
3. The developed genetic diagnostic method for Opisthorchis viverrini is used at the IPL as sub-diagnostic method for all patients from target areas.	● The Project is advancing development of a LAMP-based DNA detection method for diagnosis of Opisthorchiasis viverrini; however, it is suspected that problems exist regarding the sensitivity and specificity of the conventional microscopic method. For this reason, a review work including examination of the primer design and the reaction condition of LAMP is currently being implemented. ● Moreover, the IPL performs DNA detection testing as supplementary information from samples taken from suspected Opisthorchiasis viverrini cases on the basis of requests from health facilities. Accordingly, rather than aiming for the OVI of "*used at the IPL as sub-diagnostic method for all patients*," the Mid-term Review Team interrupts that the intention of the OVI should be to establish a method that can implement *O. viverrini* DNA detection at the IPL.
4. At least 5 scientific papers on research are published in peer-reviewed journals.	● At the time of the Mid-term Review, a research article is being prepared on LAMP-based genetic diagnosis of Schistosomiasis mekongi.

Concerning malaria, the Project developed the PCR-based plasmodium DNA detection method for

malaria research in the IPL. This has displayed higher sensitivity than that of microscopic method and immunochromatography-based RDT that are officially used for the diagnosis of malaria as the standard methods in the Lao PDR. Assuming introduction to the SMPE of the PHOs as a part of laboratory testing services in clinical practices, the PCR-based method is not suitable because it requires special laboratory instruments and reagents. In the Project, the LAMP-based plasmodium DNA detection method for diagnosing malaria of "*Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit*" developed by EIKEN CHEMICAL CO., LTD., which is rapid and easy to operate and has high sensitivity, was introduced to the IPL and the CMPE of the MOH in Vientiane and the SMPEs in Luang Prabang Province (north), Savannakhét Province (center) and Champasack Province (south) with cooperation provided by the company. Since these 3 provinces are hubs for administering each area, it can be said that all areas of the Lao PDR were covered via introduction at these 4 locations. At the time of the Mid-term Review, practical use of the kit had been commenced as a support method for malaria diagnosis. However, in order to apply new diagnostic methods in the clinical practices, it is necessary for the Project to continue to accumulate data to evaluate its clinical performance for gaining approval of the LAMP-based plasmodium DNA detection method as an official "*standard methods*" for malaria diagnosis in the Lao PDR. Following the Mid-term Review, it is intended to build a store of information for assessing clinical performance and to receive accreditation as an official method by the time of the next revision of "*the guidelines for malaria prevention and diagnosis*".

Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, in consideration of operability in the Lao PDR, rather than developing the PCR-based DNA detection method, the LAMP-based DNA detection method is being developed by the Project. Concerning the LAMP-based DNA detection method for Schistosomiasis mekongi diagnosis, this was found to be approximately 8 times more sensitive than that of conventional microscopic method in the comparative test conducted in October 2016, and it has been applied to the analyses of its intermittent host snails in the Project. The only endemic area of Schistosomiasis mekongi is Champasack Province, and the LAMP-based *S. mekongi* DNA detection method can be introduced to the SMPE of the PHO there from the technical point of view[13]. Meanwhile, since diagnoses based on investigation of feces are not implemented in clinical practice, but rather investigations of endemicity are implemented as active surveillance in specific areas by the MOH and PHOs, there is little significance in aiming for "*dissemination*" (application in the Lao PDR as a laboratory testing service) as stipulated in Output 1. If this method is used for active surveillance for grasping endemicity by the MOH and so on, it will contribute to more accurately measuring endemicity. Accordingly, the Project intends to commence discussions with the MOH and other related agencies following the Mid-term Review with regard to the way of application or utilization of the LAMP-based method for the control of Schistosomiasis mekongi in the Lao PDR.

On the other hand, although the development work of the LAMP-based DNA detection method for Opisthorchiasis viverrini diagnosis has been completed technically, since the reliability of test results obtained by the microscopic method, which are used as a benchmark, cannot be guaranteed, it is difficult to evaluate the sensitivity and specificity of the method by comparative study. Moreover, in Opisthorchiasis viverrini endemic areas, mass extermination with *praziquantel* is carried out once a year; however, due to the local dietary habit of eating raw freshwater fish, it has been confirmed that most people become re-infected within a year of the extermination. This would seem to suggest that there is room to discuss how significant it is to develop a rapid, simple and highly sensitive DNA

[13] However, since it is necessary to store the reagents used in this method at low temperature, it will be necessary to improve the freezing and drying environment if applying to actual clinical investigation services.

detection method based on LAMP method. Having said that, considering the requirements of the International Health Regulations (IHR), it is worth developing this kind of method from the viewpoint that central laboratories should have several diagnostic method options. Under these circumstances, the Project is required to conduct discussions on this issue with officials of the MOH and WHO following the Mid-term Review.

Summing up, considering the objectives and purpose of each genetic detection method, it can be said that the genetic diagnostic methods necessary for conducting parasitic disease research and countermeasures in the Lao PDR are being smoothly developed; hence, progress of Output 1 at the time of the Mid-term Review is generally deemed to be appropriate.

b) Output 2

Achievements of the Output 2 are as indicated below.

【Output 2】
Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini is monitored.

OVIs	Achievements
1. eBURST diagrams using microsatellite markers are temporally made.	● Since the preparation of eBURST diagrams using microsatellite markers is just a "*means*" of evaluating spatio-temporal changes in the genetic structure of pathogens and vectors, only eBURST diagrams do not enable "*an end (i.e., Output 2)*" to be measured. Therefore, the achievement level of Output 2 in the Mid-term Review will be measured by comprehensively evaluating the research findings so far.
2. At least 2 scientific papers on research are published in peer-reviewed journals in five years.	● A paper concerning detection of asymptomatic carriers based on malaria genetic diagnosis (PCR method) was published by the Project in the Malaria Journal in 2016[14]. ● Following the Mid-term Review, analyses on spatio-temporal changes in the genetic structure using population-genetic techniques are supposed to be performed for Falciparum malaria plasmodium and Vivax malaria plasmodium respectively, and the Project is intended to compile the findings into separate scientific papers.

As findings under the Output 2, the Project has clearly shown that the ratio of Falciparum malaria cases among reported cases of malaria in the Lao PDR is declining every year, while the ratio of Vivax malaria cases is increasing. Moreover, the active surveillance of community residents in endemic areas performed by the Project has shown that there are more asymptomatic carriers of *Plasmodium vivax* than expected (see Activity 2-1). Specifically, among samples that were diagnosed as negative in conventional microscopic testing and immunochromatography-based RDT, many samples were diagnosed as positive when using genetic diagnostic techniques such as the PCR-based method as well as the LAMP-based method (see Activity 2-4-1). As the number of malaria patients continues to decline in recent years owing to the efforts of the Lao government and its partner organizations, the demonstration of the existence of asymptomatic carriers as reservoir by the time of the Mid-term Review has been an important achievement of the Project in consideration of future elimination of malaria. Hereafter, more detailed analysis will be conducted and countermeasures will be further discussed with the Lao MOH, WHO, etc. In relation to this, the Project is working on analyzing actual situation regarding community residents with G6PD deficiency, which has the potential to trigger a severe adverse reaction (acute hemolytic anemia)

14 Pongvongsa T. et al. *Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhét province, Lao PDR.* Malar J. 2016;15:508.

when administering *Primaquine* in order to eradicate malaria from the hepatocytes. This is an important point in safely implementing radical eradication treatment for individuals with hypnozoites in hepatocytes; however, it is especially significant when considering mass drug administration of *primaquine* for extermination of *Plasmodium vivax*. So far the Project has acquired certain findings by advancing genetic epidemiological survey of G6PD deficiency among community residents in endemic areas of the Lao PDR. Following the Mid-term Review, the analysis will continue to be advanced with findings being reflected in the guidelines for malaria treatment (based on administering *Primaquine)*, and it is intended to present basic information for discussing the merits and demerits of mass eradication based on *Primaquine* by the end of the Project since it is still controversial.

Concerning the OVI for the measurement of achievement level of the Output 2, as was described in the Activity 2-3, in order to elucidate spatio-temporal changes in the genetic structure of pathogen and vector populations, 1) molecular phylogenetic analysis, 2) eBURST analysis, 3) cluster analysis and 4) other analyses where needed are supposed to be implemented. Through clarifying spatio-temporal changes in the genetic structure in this way, it will be possible to grasp prevalence and analyze future prevalence trends; moreover, through evaluating genetic diversity of the population, it will be possible to determine the effectiveness of countermeasures and influx of pathogens from other areas.

Concerning malaria, the Project succeeded in establishing a setup for widely collecting blood samples from suspected malaria patients over time by the time of the Mid-term Review. Currently, identification of malaria plasmodia based on the PCR method is being conducted and once this work is finished it is supposed to spatio-temporally analyze the changes in the genetic structure of malaria plasmodia using population genetic techniques including eBURST using micro satellite markers.

Concerning Schistosomiasis mekongi, the countermeasures of recent years have led to a major decline in the number of patients. Accordingly, since numbers of infected intermittent host snails in the *S. mekongi* lifecycle are also interrupted, it will be difficult to collect sufficient numbers of infected snails to conduct mass genetic analysis. Accordingly, it will be extremely difficult to apply this analysis to Schistosomiasis mekongi. Meanwhile, concerning Opisthorchiasis viverrini, even when mass extermination with *praziquantel* is carried out once a year, it has been clearly shown that up to 90% of community residents in high endemic areas become re-infected due to the local dietary habit of eating raw river fish. In such an environment of a persistently high infection rate, evaluation of spatio-temporal changes in the genetic structure of *S. mekongi* based on population-genetic techniques can only have a limited effect in terms of the effective control of Opisthorchiasis viverrini in the Lao PDR. Moreover, for similar reasons, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, it has been clearly shown that it will be difficult to evaluate determining factors as well as spreading factors of endemicity based on the molecular epidemiological approach.

In addition, through conducting analyses of blood samples from approximately 20,000 malaria-suspected patients that have been collected in the Project as of the time of the Mid-term Review, there is a possibility that the Project can discover cases of human infection of *P. knowlesi*.

In this way, concerning malaria, important epidemiological data has been gathered in the Project as of the Mid-term Review and it can be anticipated that findings of advanced analyses using population-genetic techniques will be published as scientific articles in international journals and that the findings will be compiled into policy recommendations backed up by convincing evidence by the end of the Project. Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, evaluation is difficult for the reasons described above; however, it is deemed from general

assessment that the degree of achievement of Output 2 has largely been appropriate as of the time of the time of the Mid-term Review.

c) Output 3

Achievements of the Output 3 are as indicated below.

【Output 3】 Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.	
OVIs	Achievements
1. At least 2 markers for the drug resistant malaria are elucidated.	● Since it is scheduled to search for drug resistant marker genes following the Mid-term Review, there are no research outcome or achievements concerning this OVI at the time of the Mid-term Review. ● However, several research findings and outcomes that help elucidate the mechanism of the emergence and expansion of drug resistant malaria have been gained (see the Activity 3-1 and the Activity 3-2 and the following commentary).
2. A scientific paper on emergence and expansion of the drug resistant malaria is published in a peer-reviewed journal at least one in 5 years.	● The research findings of the joint research of the Institut Pasteur International Network on the artemisinin resistant genetic mutation of Falciparum malaria plasmodium were published in the New England Journal of Medicine in 2016. Since the IPL Parasitology Laboratory has undertaken analysis of artemisinin resistant genes in the Lao PDR, it can be said that the Project partially contributed to the presentation of the above paper. ● Blood samples continue to be collected from suspected malaria patients in the 4 southern provinces and 1 central province (Savannakhét Province). Following the Mid-term Review, further analysis will be advanced on these samples with a view to clarifying the distribution of artemisinin resistant genetic mutation.

As was indicated in the Activity 2-1 under the Output 2, Falciparum malaria accounted for 99% of reported cases in 2009; however, by 2015 the ratio of Falciparum malaria had fallen to 40% while the share of Vivax malaria had risen to 58%. This suggests that it is necessary to also investigate Vivax malaria in addition to Falciparum malaria when examining the emergence and expansion of drug resistant malaria.

Since chloroquine resistant Falciparum malaria was dominant in the Mekong region, the use of chloroquine is prohibited for its treatment in the Lao PDR. However, on conducting analysis of chloroquine resistant gene of *pfcrt* in the Project, it was confirmed that chloroquine-sensitive (wild type) *Plasmodium falciparum* is increasing (see Activity 3-1). It is guessed that the decline in chloroquine selection pressure is one of the factors behind the increase in wild-type *Plasmodium falciparum*, however, there are still not enough samples to draw any definite conclusions. The Project is supposed to widen the target area and increase the number of samples hereafter.

Moreover, as a result of analyzing the *K13* gene that is considered to be related to the resistance against artemisinin, no mutations were observed in the gene in any of the samples collected in Savannakhét Province in 2010; however, genetic mutation (C580Y), which contributes to artemisinin resistance, was detected in 3% of the samples collected in 2015. This indicates that either the indigenous plasmodium *K13* genes of Savannakhét Province underwent mutation or a plasmodium population with *K13* gene mutation entered the province from another area. On the other hand, in the survey that was implemented in Salavan Province adjacent to Savannakhét Province, C580Y mutation of the *K13* gene was observed in 63% of the tested samples, a significantly higher figure than the 3% in Savannakhét Province. This suggests that there is already a high distribution of *K13* gene mutation, which is responsible for artemisinin resistance, in Salavan

Province, and that there is a wide disparity in the level of distribution between the 4 southern provinces. Following the Mid-term Review, the Project is going to add analysis results obtained from samples collected in other areas and to conduct more detailed analyses concerning the distribution of resistance-responsible genes.

In order to conduct a more detailed examination of the mechanism behind the emergence and expansion of drug resistant genes, the Project intends to search more other new drug resistant markers. These activities are supposed to be fully implemented following the Mid-term Review; however, as was stated above, since important findings have already been gained concerning the mechanism behind the emergence and expansion of drug resistant genes as of the time of the Mid-term Review, the degree of achievement of the Output 3 is deemed to be appropriate at the time of the Mid-term Review.

d) Output 4

Achievements of the Output 4 are as indicated below.

【Output 4】

Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government.

OVIs	Achievements
1. Slide Positivity Rate (SPR) under the microscope and positivity rate by genetic diagnosis coincide at the rate of more than 90% for diagnosing malaria and Opisthorchiasis viverrini. 80% for Schistosomiasis mekongi.	● Concerning malaria, since microscopic diagnosis has far lower detection sensitivity than that of the LAMP-based DNA detection method, the SPR in the target areas is extremely low compared to the positive rate in the genetic method; naturally, the rate of correspondence of SPR with the positive rate of the LAMP-based method is low. For example, taking the case of Falciparum malaria, assuming that the positivity rate in genetic method (PCR) is 100%, the SPR is 20% (concordance rate 20%), while in the case of Vivax malaria, assuming the PCR method has a positivity rate of 100%, the SPR is just 5% (concordance rate 5%). However, since the LAMP-based DNA detection method (LoopampTM), which has far higher detection sensitivity than that of the conventional microscopic method and immunochromatography-based RDT, it is thought that that the envisaged objective of this OVI has generally achieved from the viewpoint that monitoring of malaria prevalence is performed by highly sensitive DNA detection methods. ● Likewise Schistosomiasis mekongi, since the LAMP-based DNA detection method, which has an 8-fold higher detection sensitivity than that of the conventional microscopic method, has been developed, the concordance rate is extremely low as a matter of course. ● Concerning Opisthorchiasis viverrini, it is highly likely that the results of diagnosis by the microscopic method are unreliable; hence it is currently difficult to determine which is correct out of the SPR and positivity rate gained from the LAMP method.
2. Education material(s) for the prevention of 3 diseases are developed and submitted to the local government.	● The Project is supposed to prepare Information, Education and Communication (IEC) materials concerning disease prevention following the Mid-term Review. ● School textbooks in the Lao PDR already contain advice about how to avoid mosquito bites and reduce mosquito generating areas with a view to preventing malaria infections. ● Concerning Opisthorchiasis viverrini, textbooks recommend that fish should be eaten upon heating. Textbooks also include general sanitation information such as advice on washing hands and using toilets. ● Thus, it can be said that IEC materials are already more or less

	established in the health education mechanism at schools. In future, it will be necessary to discuss about which methods (including development of teaching materials) should be adopted to monitor and control of the target diseases, and which groups be should targeted.

Since the genetic diagnosis methods for malaria and Schistosomiasis mekongi, introduced or developed in the Project, have higher detection sensitivity than that of conventional microscopic testing, the correspondence rates with conventional methods were naturally low. However, concerning malaria, the techniques and necessary detection device for the LAMP-based DNA detection method have already been introduced to 3 main SMPE of the PHOs that have jurisdiction over the northern, central and southern regions, and they have just started to use the method for malaria diagnostic services. Accordingly, it is considered that the objective has largely been achieved from the viewpoint of monitoring malaria endemicity based on highly sensitive detection methods. Concerning the DNA detection method for Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini diagnosis, technical development has more or less been finished at the time of the Mid-term Review; nevertheless, as was indicated in the achievement for Output 1, there is still room for discussion among MOH officials and other stakeholders regarding how to apply these genetic detection methods to monitoring of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in the Lao PDR.

On the other hand, the Output 4 is to investigate effective social-scientific interventions (health education, positive deviance, etc.) with a view to preventing and controlling the target infectious diseases based on the solid bases such as scientific findings and/or outcomes gained from Outputs 1, 2 and 3. As was indicated in the achievement of the OVIs, it is questionable whether there is need to develop novel IEC materials for preventing and controlling malaria in the school health education. Meanwhile, the Project has discovered that 11% of community residents infected with malaria in endemic areas are asymptomatic carriers, and this is going to be an important factor for conducting malaria countermeasures in the Lao PDR in future. Since this survey revealed that there is a higher rate of infection especially among adult males including forest workers who work outdoors, the Project will work on the development of social-scientific approach(es) in cooperation with the MOH and WHO with a view to preventing these infections following the Mid-term Review.

Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini too, it is questionable whether it is necessary to develop new IEC materials since school textbooks already contain information about mosquito prevention measures, avoiding consumption of raw fish, using toilets and washing hands. Moreover, considering the low literacy rate among adults (54% literacy among surveyed persons in the Project) in the rural areas of the Lao PDR where parasitic diseases are endemic, it is necessary to carefully consider the means of conveying messages. Concerning Opisthorchiasis viverrini, it was found that cutting boards tend to be more hygienically managed after cutting fish in the households of non-infected persons compared to those in the households of infected persons. This suggests the possibility of a "*positive deviance*" for the prevention of infection. Following the Mid-term Review, laboratory testing will be performed to demonstrate the existence of *O. viverrini* in cutting board residues, and intervention testing from the viewpoint of positive deviance aimed at sustaining non-infection following implementation of mass extermination with *praziquantel* is also being considered.

Summing up the above points, it may be said that development work has been more or less finished on the basic LAMP-based testing methodology and basic information survey geared to the prevention and control of target diseases in the second half of the Project. Accordingly, the degree of achievement concerning Output 4 is thought to appropriate in general at the time of the Mid-term Review.

e) Output 5

Achievements of the Output 5 are as indicated below.

【Output 5】 Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.	
OVIs	Achievements
1. Basic training program on malaria and parasitic diseases control for Lao researchers is conducted once every year.	● Basic training concerning malaria and parasitic disease control was conducted for 156 health personnel in high endemic areas in 4 southern provinces (Salavan, Champasack, Sekong, Attapeu) and the adjacent Savannakhét Province in 2015 and 2016. It is also scheduled to implement a refresher training course once a year until the end of the project period. ● In May 2016, a one-month course on malaria and parasitic disease countermeasures, the basics of DNA and the PCR method was conducted for 5 master's students of the National Health Science University.
2. At least five research presentations are made in scientific forums or scientific papers are published in a peer-reviewed journals by Lao researchers in five years.	● In 2016, a research paper, prepared in the Malaria Journal by a Lao researcher (chief of the SMPE of the Savannakhét PHO) as a first author. ● Following the Mid-term Review, it is expected that further analyses and more advanced research will be performed on the samples collected so far. It is expected that the Lao researchers will take the initiative in preparing scientific papers under the guidance of the JICA experts (researchers).
3. Annual report of activities by researchers and administrative officers are presented in the NHRF.	● Reports on the activities of the related researchers and administrative officers are given in the LNHRF every year. Following the Mid-term Review, the research findings and outcomes of the Project will continue to be reported at the forum.

At the IPL Parasitology Laboratory, one (1) JICA expert (NCGM researcher), one (1) Lao scientists, two (2) Lao junior scientists and two (2) Lao technicians are engaged in the project research directly. Up until the time of the Mid-term Review, project research activities mainly comprised construction of the research implementation setup and the basic experiments, analyses, etc. of the huge volume of collected samples. However, following the Mid-term Review, it is intended to increase discussion opportunities geared to improving the capacity of Lao laboratory staff members in the areas of planning research and interpreting results and so on. Under the guidance of the JICA long-term experts, it is also supposed to actively prepare abstracts and conference presentation slides in English and practice giving presentations. However, since the young Lao members have less experience of writing papers in English, it will also be necessary for them to make independent efforts such as reading English papers and so on.

Meanwhile, the Project has offered training on malaria and parasitic disease control to a total of 156 health personnel engaged in parasitic disease control on the ground in districts and provinces. Not only has this made a contribution to measures for the prevention and control of target diseases, but it has also helped build a nationwide network, as a byproduct of training, for periodically collecting samples.

Following the Mid-term Review, it is supposed that more advanced analyses and summation of findings will be performed and that there will be increased opportunities to write scientific articles and give presentations at conferences. Accordingly, the degree of achievement concerning the Output 5 is thought to generally appropriate as of the time of the Mid-term Review.

3) Achievements of the Project Purpose

【Project Purpose】 Research results based on the methods for the genetic epidemiology diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are utilized in government services such as in diseases control.	
OVIs	Achievements
1. Risk map for each 3 diseases are developed and shared with relevant institutions/ departments such as the Department of Communicable Diseases Control, MOH.	● Since the Lao MOH is already compiling a malaria risk map in cooperation with NGOs, no such map will be compiled in the Project. ● Concerning Schistosomiasis mekongi, the results concerning detection of *S. mekongi*-infected snails in a part of surveyed areas (including locations) of Khong District, Champasack Province (Don Long Island and Don Khon Island) were shared with the CMPE of the MOH. However, since these results are only specific to the areas where investigation was implemented, they do not represent an assessment of risk areas in the endemic areas overall. The results of a joint investigation performed by the CMPE of the MOH and the Project from September to October 2016 showed that the prevalence of Schistosomiasis mekongi varied from 0% to 8% in each village. For this reason, it is considered that it is wort preparing a risk map in the villages where the infected persons are found; that is, not necessarily for the villages with no infected persons. ● Concerning Opisthorchiasis viverrini, infection rates according to microscopic testing based on the Kato-Katz method are extremely high in endemic areas; hence it may be said that risk exists everywhere in such areas. Moreover, since freshwater fish are sources of infection, there is little significance in compiling a risk map.
2. Based on the research results, suggestion paper(s) for diseases control of each 3 diseases are developed and shared with relevant institutions/ departments such as the Department of Communicable Diseases Control, MOH.	● Research findings gained in the Project are always shared with the CMPE of the MOH. Moreover, the DCDC and the IPL stage a report meeting on performance and achievements every year. ● Moreover, the JICA long-term experts (NCGM researchers) stationed in the IPL attend the meetings and conferences for the control and elimination of malaria and parasitic disease staged by the MOH, WHO, etc. as a staff of the IPL Parasitology Laboratory, and shares their research findings and give technical advice on these occasions. It is worth noting that the JICA long-term experts (NCGM researchers) participated as representatives of the IPL in the capacity of advisory members in preparation of the National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination 2016–2020, which was published by the CMPE and DCDC of the MOH in January 2016, and provided advice in light of the project research achievements as well as his expertise and experiences as a scientist.

As has been indicated so far, the Project has succeeded in acquiring important findings and research outcomes concerning endemicity of malaria (including asymptomatic carriers) and the mechanism that can contribute to drug resistance in the Lao PDR as of the time of the Mid-term Review, and these findings have even been published as scientific papers. Following the Mid-term Review, the Project is supposed to conduct more multidirectional and advanced analyses and it is anticipated that more research outcomes can be generated that will contribute to the formulation of malaria control policies and concrete countermeasures. Moreover, the simple and highly sensitive LAMP-based DNA detection methods were introduced to major research institutes in Vientiane (the CMPE and the IPL) as well as the SMPE of the PHOs covering the north, center and south of the country, and training of health personnel who are engaged in parasitic disease control at such facilities is being advanced. Moreover, as was indicated in the achievement of Outputs, the JICA long-term experts (NCGM researchers) stationed in the IPL have shared the research findings and outcomes and

offered technical advice when participating in national conferences on malaria control. In view of the above points, it can be said that some of the original objectives of the Project especially for malaria have already been achieved. Following the Mid-term Review, while continuing the research activities, it is anticipated that information sharing and cooperation based on the research findings and outcomes will further be promoted with the MOH, WHO and other related agencies.

Meanwhile, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, development work on the LAMP-based DNA detection method has more or less been completed from the technical point of view. However, whereas the number of *S. mekongi*-infected persons has been largely reduced in recent years, the infection rate of *O. viverrini* remains high due to the dietary culture of the Lao PDR. All WHO member countries are required to strengthen the "*preparedness*" against infectious diseases by preparing options for testing and diagnostic methods; hence it is significant that the Project aims to establish DNA detection methods that have high sensitivity with respect to such parasitic diseases. However, following the Mid-term Review, it will be necessary to hold careful discussions with the MOH and related agencies concerning the way in which such detection methods should be applied in the context of the Lao PDR. Meanwhile, in the Project, particularly concerning Opisthorchiasis viverrini, research has been started on social-scientific approaches aimed at reducing infection rates while cooperating with other genetic and epidemiological research in light of the environment including dietary habit in endemic areas. Following the Mid-term Review, consideration is also given to implementing practical intervention(s) based on the concept of "*positive deviance*", and it is anticipated that findings can be presented that will contribute to the formulation of policies and concrete countermeasures in the MOH and other related agencies by the end of the Project.

In view of the above points, the achievement of the Project Purpose at the time of the Mid-term Review is satisfactory and it is anticipated that research findings and outcomes that make a contribution to future parasitic disease countermeasures in the Lao PDR can be obtained. Meanwhile, since many of the staff members of the IPL Parasitology Laboratory are young and less experienced, it will be necessary to enhance joint work aimed at enhancing their capacity as scientists following the Mid-term Review.

3.3 Implementation Process

1) Project Management and communication among parties concerned

The IPL was established in the Lao PDR in 2008, and its current facilities were opened in 2012, two years prior to the year when the Project was started. The Japanese agencies participating in the Project had already commenced joint research with the Lao agencies such as the IPL and the NIOPH before the start of the Project, so cooperative relations had already been developed to an extent when the Project commenced. Following the establishment of the IPL, the IPL Parasitology Laboratory has been operated, with the support of the NCGM, as the Lao-Japan Joint Laboratory, with the Project Chief Advisor (NCGM Department Director) acting as the Head of Laboratory, the JICA long-term expert (NCGM researcher) acting as the Laboratory Manager, and JICA short-term experts acting as the IPL Visiting Scientists taking the initiative with the Lao staff members in managing the laboratory and research activities and supervising the laboratory (see Annex 7 for the Organogram of the IPL). A conference of laboratory heads is held once a week in order to share the research progress and discuss the possibilities for joint research and so on. Through such weekly conferences, the IPL encourages intra-IPL joint research between laboratories, and the Project (Parasitology Laboratory) has also been active in promoting technical exchange with the other

laboratories. The Director General of the IPL is working as the Project Manager, and is contributing to the strict operational management as well as the steady progress of the Project by leading collaborative research in the Lao PDR.

Moreover, as was also indicated in the degree of achievement of the Project objectives, the Project routinely shares information with the MOH CMPE (administrators of the Project on the Lao side), and it actively shares research findings and conducts technical advice and exchange concerning malaria and other parasitic disease countermeasures with partner agencies in various committees and conferences.

2) Ownership and autonomy

As has been indicated so far, the CMPE of the MOH puts the importance on the research outcomes of the Project and technology transfer to health personnel on the ground, and it regards Japanese research institutes and the IPL as important partners in the field of the research on the control of malaria and parasitic diseases. However, many of the staff members of the IPL Parasitology Laboratory are young less experienced, and although the related agencies on the Lao side recognize the need for ownership of the Project, due to the organizational system of the IPL, Japanese research institutes conduct the de facto operation and management of the Parasitology Laboratory as the implementing body for the project activities.

The JICA experts (Japanese researchers) in the Project conduct joint research with strong awareness of the need to build the capacity of the Lao researchers and local health personnel, and they are mindful of the need to nurture the kind of researchers who can lead the laboratory in future.

CHAPTER 4 EVALUATION RESULTS

4.1 Relevance

The relevance of the Project has been highly maintained hitherto.

1) Consistencies of the Project Purpose with the Lao Health Policies and the needs of target groups

Though the proportion of non-communicable diseases for the cause of death in the Lao PDR is increasing in recent years likewise other Southeastern Asian countries, malaria and other parasitic diseases such as Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are still recognized as burdens to nation's health as well as socio-economics in this country. Owing to the concerted efforts by the MOH and WHO such as the distribution of LLINs, the number of reported malaria cases is on the decrease significantly. Against this backdrop, WHO announced the "*Strategy for malaria elimination in the GMS 2015–2030*", aiming to eliminate Falciparum malaria by 2025 and eliminate all types of malaria by 2030 in the 6 countries in the Greater Mekong Subregion (GMS) including the Lao PDR. In accordance with the Strategy, the Lao MOH, with the support of WHO, the Project (i.e., JICA experts and the IPL) and other stakeholders, issued "*the National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination 2016-2020*" in January 2016. It is clearly stated in the National Strategy that development partner organizations such as WHO, JICA and GFATM and the research institutes such as the IPL and the Lao-Oxford-Mahosot Hospital Research Unit(LOMWRU) will work together for realizing the elimination of malaria in the Lao PDR.

Moreover, the significance of taking measure for the control not only for malaria but also other parasitic diseases including Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the target diseases of the Project, is clearly mentioned in the "*Eighth 5-year Health Sector Development Plan 2016-2020*". The Plan stipulates the specific areas to be addressed as follows: capacity enhancement of both national and local laboratories (including human resource development and quality control) in accordance with the requirements of the IHR and other international standards; the reinforcement of infectious disease surveillance system; the control of drug resistance; and the strengthening of health education.

The Project is aiming to contribute toward the evidence-based policy making and the reinforcement of both active and passive surveillance for malaria and other parasitic diseases through the development of simple and highly-sensitive DNA detection methods for diagnosing malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, analyses on the prevalence of the three targeted disease as well as the dissemination of drug resistance-related gene mutations, exploration of factors in maintaining infection-free status by the social-scientific approaches. The Project also put the emphasis on the capacity enhancement of human resource, administrative organization and research institution at national and local levels engaged in the control of malaria and other parasitic diseases through the collaborative research of the Project.

Based on the above, the consistency of the Project Purpose, aiming to strengthen the capacity of research and administrative organizations responsible for the control of malaria and other parasitic diseases to implement countermeasures for the control and elimination of it based on the solid basis such as research findings and outcomes, with the Lao health policies has been highly maintained as of the time of the Mid-term Review.

2) Consistency of the Project Purpose with Japan's Aid Policy

The Government of Japan has been promoting aid activities for infectious disease control, and the "*Global Health Policy 2011-2015*" clearly come out with the promotion of NTD control, preparedness for emerging and reemerging infectious diseases and international collaboration for it. Furthermore, in its "*Basic Design for Peace and Health (Global Health Cooperation)*" and "*Basic Policy on Strengthening Countermeasures for Infectious Diseases that Pose a Threat to Global Society*", both publicly announced in September 2015, the Government of Japan states to build a health security that is resilient to external factors such as public health emergencies and disasters and to strengthen Japan's contribution and roles for the countries and regions facing the pandemic outbreaks of public health concerns. The Japan's Aid Policy for the Lao PDR, issued in April 2012, stipulated the "*Improvement of health and Medical Services*" as one of four priority[15] areas for assistances.

For these reasons, the Project, aiming to contribute the improvement of health and medical services as well as the control of drug-resistant malaria in the Lao PDR through the collaborative research and technical cooperation, is deemed to be highly consistent with the Japan's Aid Policies.

3) Appropriateness of implementation method

① Rationale for the development of DNA detection methods for parasitic diseases with significantly high or low number of infected populations

As was described in the "*Achievement of Output 1*" section, the number of Schistosomiasis mekongi cases is on the significant decrease in recent years owing to the effective interventions such as the mass extermination with anthelmintic agents, and it is recognized that the *S. mekongi* is on the brink of elimination in the Lao PDR. On the other hand, even though the mass extermination with anthelmintic agents has been conducted targeting Opisthorchiasis viverrini too, approximately 88 % of community residents are re-infected in the high endemic areas due to the dietary habit to eat raw river fish, which is regarded as the intermediate host of *O. viverrini*. The condition and status of control is totally different from each other; however, it might be considered that there is high demand to develop highly sensitive DNA detection methods for diagnosing the said parasitic diseases. Further, community residents are not subject to laboratory testing for concrete diagnoses of the said parasitic diseases in usual clinical practice in the Lao PDR. Regardless of the presence or absence of parasites, community residents in endemic areas are subjected to mass extermination with anthelmintic agents; that is to say, the LAMP-based DNA detection methods for diagnosing Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are not necessarily introduced to the laboratories in PHOs and DHOs.

Having said that, the MOH is performing active surveillance for grasping prevalence of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in some selected places before the commencement of mass extermination. The diagnosis of the said parasitic diseases are made by the conventional microscopic method; nevertheless, it is technically difficult to visually distinguish *O. viverrini* from other morphologically-similar parasite eggs by laboratory technicians, implying that the prevalence of Opisthorchiasis viverrini might be overestimated. For this reason, the Project is facing difficulty to evaluate the sensitivity and specificity of the LAMP-based *O. viverrini* DNA by comparing the diagnosis results obtained from the conventional microscopic method. However, given that the highly-sensitive DNA detection methods for the said parasitic diseases were introduced to the active surveillance, the results of it will be more reliable and countermeasures

[15] Other three priority areas are "*development of socioeconomic infrastructure*", "*agricultural development and forest preservation*" and "*improvement of educational environment and human resource development*".

will be developed based on the reliable evidences. In consideration of the compliance of the IHR, it is also required for national level reference laboratories should have several options to diagnosis the said diseases. Besides, as was described above, the number of Schistosomiasis mekongi cases is on the significant decrease to the edge of elimination; thus, it is rather necessary to prepare the highly-sensitive *O. viverrini* detection method for future post-elimination monitoring.

For these reasons, the rationale for the development of the LAMP-based DNA detection methods for diagnosing Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini within the scope of the Project. However, the Project should discuss carefully the way of practical application of the said methods to the control of parasitic disease in the Lao PDR with the relevant parties such as the MOH and WHO hereafter.

② Special consideration for gender issues, social grades, environment, ethnic groups, etc.

Negative impacts for human body and environment are concerned in the Project since researchers engage in the research activities in which infectious materials are handled. However, the research activities are conducted under the supervision of JICA experts (researchers) and/or Lao scientists in charge. In this manner, considerations to the safety of human body as well as environment are properly made in the Project.

Moreover, the Institutional Review Board (IRB) was established in the IPL in 2016, and all the research plans are subject to review by the IRB thereafter. The research topics of the Project, where necessary, were also subject to the reviews by the IRBs both in the IPL and in the respective Japanese research institutes; that is to say, the ethics in the project research is ensured properly.

4.2 Effectiveness

The effectiveness of the Project is high in general at the time of the Mid-term Review.

1) Probability of Achievement of Project Purpose

As was described in the Achievement of the Project Purpose, the Project obtained important research findings and outcomes of especially in malaria research with regard to the prevalence of the plasmodia (including asymptomatic carries) as well as the mechanism responsible for the emergence and expansion of drug resistance gene mutation, and some of achievement have already been published in international scientific journals as of the time of the Mid-term Review. Since more multidirectional and advanced analyses are supposed to be performed following the Mid-term Review, it anticipated that the Project will obtain more research outcomes that will contribute to making concrete measures for the control and elimination of malaria. Further, the Project has introduced the simple and highly-sensitive LAMP-based DNA detection method to three (3) major SMPEs of the PHOs that covers northern, central and southern regions as well as national level research institutes (the CMPE and the OPL) in Vientiane, in parallel with the implementation of capacity development of health personnel engaged in the control of malaria and other parasitic diseases on the ground. Besides, the JICA long-term expert (NCGM researcher) became a member of national level meetings and conferences for the control of infectious diseases in the Lao PDR and provided technical guidance on the basis of research findings and outcomes as well as his expertise and experiences as a scientist. For these reasons, it can be said that a part of original purpose of the Project, especially for malaria, has already been achieved even at the time of the Mid-term Review. Following the Mid-term Review, it is further expected that information sharing and collaboration with relevant parties such as the MOH and WHO in parallel with the project research activities.

Meanwhile, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the Project has almost completed development work on the Lamp-based DNA detection methods for each parasitic disease as of the time of the Mid-term Review. The LAMP-based *S. mekongi* DNA detection method can be introduced to the SMPE of the PHO in Champasack, which is the only endemic area for Schistosomiasis mekongi in the country, from the technical point of view even at the time of the Mid-term Review. Meanwhile, concerning Opisthorchiasis viverrini, since the diagnosis results from the conventional microscopic method are not fully reliable, which is used for a benchmark for evaluation, it is difficult to evaluate the sensitivity and specificity of the LAMP-based *O. viverrini* DNA detection method as of the time of the Mid-term Review. As was described in the "*Relevance*" section, it is required for the Project to have a series of discussions with relevant parties such as the Lao MOH and WHO about how to apply those LAMP methods to the control of parasitic diseases in the Lao PDR; nevertheless, the Project also gained epidemiological research results for each parasitic disease using the said detection methods. For these reasons, it is deemed that the degree of the achievement of the Project Purpose is appropriate in general as of the time of the Mid-term Review. On the other hand, the Project has commenced a research of social-scientific approach for maintaining the infection-free state of community residents in endemic areas of Opisthorchiasis viverrini in consort with other genetic and epidemiological research, in consideration of the cultural context in the Lao PDR including dietary habit of eating raw river fish; specifically, the Project is planning to intervention trial to achieve the said objective on the basis of the concept of the "*positive deviance*", of which results and findings are expected to be presented to the MOH and/or other stakeholders by the end of the project period for their beneficial use of it to make policies and/or concrete countermeasures.

Summing up, the novel research findings and outcomes has effectively been shared with the administration bodies and research institutes engaged in the control of malaria and other parasitic diseases in the Lao PDR such as MOH and WHO. The JICA expert (NCGM researcher), as a representative of the IPL Parasitology laboratory, participated various meetings and conferences for the control of malaria and parasitic diseases staged by the MOH, WHO and so on, and provided research results, findings and technical advices based on his expertise and experiences. It is worth noting that the JICA expert has participated editing work for "*the National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination 2016-2020*" as an advisory member. Therefore, it can be said that a part of the Project Purpose "*Research results based on the methods for the genetic epidemiology diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are utilized in government services such as in diseases control*" is already achieved as of the time of the Mid-term Review.

On top of the research findings and outcomes gained from the project collaborative research, the Project has been putting efforts to capacity development not only of Lao young researchers but also health administrative officers and medical professionals on the ground through joint research work and trainings provided by the Project. For these reasons, it is highly anticipated that the Project Purpose is achieved by the end of the project period.

2) Important assumptions for the achievement of Outputs

① Current status of "*Malaria and parasitic diseases control related policies are not altered drastically in Lao PDR*"

As was described in the "*Relevance*" section, the MOH has been strengthening the political efforts by publishing "*the National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination 2016-2020*" for the achievement of the GMS target of the elimination of all types of malaria

by the year of 2030.

Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, "*the Eighth 5-year Health Sector Development Plan 2016-2020*" states that the significance of taking measures for the control of parasitic diseases including Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini on top of malaria, which are targeted in the Project.

For this reason, this OVI is fulfilled since any policy alteration concerning malaria and parasitic diseases control has not been taken place as of the time of the Mid-term Review.

② Current status of "*Trained counterparts do not leave their position so as to affect the outputs of the Project*"

Only one (1) person, a junior scientist of the IPL Parasitology Laboratory, out of 21 counterpart personnel has resigned just 2 months after the commencement of the Project; nevertheless, this had less impacted on the achievement of Outputs of the Project. However, the IPL has hired a part-time Lao person with Ph.D. degree obtained in the Japan university from the NIOPH to compensate for this departure. In fact, cooperative relationships with agencies engaged in the control of malaria and/or parasitic diseases in the Lao PDR were promoted as the project activities progressed, some of which were also added to the member list of the Project as needed basis.

Meanwhile, the Project provided a total of 156 health personnel such as local administrative officers in charge of infectious disease control and medical professionals in health facilities with technical trainings due to the recognition of capacity enhancement of such personnel from the 2nd year (2015) of the Project. Though little information was available, the Review Team confirmed that no major turnover of Lao health personnel was happened enough to diminish the effects of the said training from interviews with Lao counterpart personnel. However, the Project is taking a measure of staff turnover into consideration and conducted a refresher training geared to such personnel. Since the Project is planning the refresher trainings once a year until the end of the project period, it is anticipated that the effect of this kind of input from the JICA side (i.e., provision of training) will not be diminished within the project period at least.

3) Contributing Factors for Effectiveness

As just described above, the Project provided a total of 156 health personnel with trainings for capacity enhancement in parasitology, which are beneficially utilized their daily duties regarding prevention and control of parasitic diseases. Simultaneously, the training brought a byproduct to establish a network of sample collection from malaria-suspected patients in southern endemic areas in the Lao PDR. Further, on the basis of the trustworthy relationship, field survey exercises were smoothly conduct with the great support from the PHOs and DHOs. This is regarded as a contributing factor for the effectiveness of the Project.

Meanwhile, the CMPE of the MOH as well as WHO showed their recognition that the Project (i.e., JICA experts and the IPL researchers) is an important partner who can to provide scientific evidences such as research findings and outcomes for helping them to develop policies and/or countermeasures. Based on such recognition, the JICA long-term expert, as a representative of the IPL Parasitology Laboratory has been assigned as a member of the said meetings and provided technical guidance based on the project research findings and his expertise and experiences. The establishment of such relationship of mutual trust and collaboration can be interpreted as the

establishment of cooperative environment for the application of research findings and outcomes to the policies and/or measures for the control of infectious diseases in the Lao PDR; therefore, this also can be recognized as a contributing factor for the effectiveness of the Project.

4) Inhibitory Factors against Effectiveness

No major event that hinders the effectiveness of the Project has observed as of the time of the Mid-term Review.

4.3 Efficiency

The efficiency of the Project is high in general as of the time of the Mid-term Review.

1) Progress Management of the Project Activities

The Japanese project member organization such as the NCGM, UR and UT have been doing collaborative research with the Lao project implementers such as the IPL and the NIOPH before the commencement of the Project, that is to say, the collaborative relationships have already been developed at the time of the commencement of the Project. Especially in the IPL, the project research activities have smoothly started in the IPL using existing research instruments and equipment, which had been introduced by the NCGM. Though it took longer-than-expected time (approx. 2 to 4 months) to go through procedures for acquisition of tax exemption certificates for research instruments, reagents, etc. from the Lao authority concerned in accordance with the R/D, the setup of the Laboratory had been completed by the time of the Mid-term Review.

Meanwhile, as was described in the "*Verification of Implementation Process*" section, the IPL Parasitology Laboratory is operated as the Lao-Japan Joint Laboratory, headed by the Chief Advisor of the Project (NCGM department director) and the JICA long-term expert is assigned as the Laboratory Manager to organize research activities as well as other managerial work in the Lao PDR. The IPL hold a weekly meeting with the participation of all laboratory heads chaired by the Director of the IPL to share the progress and achievements as well as to discuss managerial issues.

As has been described, the Project has been working smoothly from the 1st year of the project period, and several scientific findings and outcomes have already been gained as described in the "*Effectiveness*" section. Meanwhile, the Project has established the regular sample collection system for malaria research from the four (4) southern provinces and one (1) province (Savanaket) in central region adjunct to southern region, and has accumulated approximately 20,000 blood samples in total as of the time of the Mid-term Review using filter papers and registered in the sample library system in the IPL. Owing to such a huge number of samples, the Project is able to perform analyses for the distribution of malaria plasmodia as well as its gene mutation responsible for drug resistance more precisely, nevertheless, this had exceeded the capacity of the IPL Parasitology Laboratory in terms of manpower for processing those samples. A part of the samples was sent to the NCGM on the basis of the MTA exchanged between the IPL and the NCGM with formal authorization from the Lao MOH, and are being subjected to analyses as of the time of the Mid-term Review by a technician hired by the NCGM just for that purpose.

2) Beneficial utilization of provided equipment and materials

Though the frequency of use varies in accordance with the related purpose and environment, all the instruments, equipment and devices are properly used to the research activities and maintained by

the Lao side.

3) Beneficial utilization of knowledge and skills acquired at the training in Japan

A total of two (2) Lao young researchers (a junior scientist and a technician) were dispatched to the NCGM for short-term training. The knowledge and skills gained through the trainings were utilized to the project research activities effectively. Meanwhile, one (1) administrative officer of the CMPE is currently working on his doctoral thesis concerning epidemiology for the control of malaria in the UR under the framework of project's long-term training, and is anticipated to acquire the Ph.D. degree by the end of the project period. These young researchers and administrative officers are expected to lead the infectious disease control in future from the academic and political standpoint in the Lao PDR.

Moreover, as has been described, the Project provided a total of 156 health personnel such as administrative officers on the ground and medical professionals with the training of the theory and practice in parasitic disease diagnosis based on the recognition of the necessity to capacity enhancement of such personnel. The Mid-term Review mission heard some positive changes such as the improvement of manipulation skill for clinical testing from the interviews of the Lao counterpart personal.

4) Collaboration with External Resources

① Collaboration with other development partner organizations such as WHO

The initiatives for the control of malaria and other parasitic diseases in the Lao PDR are proceeded by the concerted efforts of development partners such as WHO and UNICEF as well as research organization such as the IPL and the LOMWRU as the initiative of the MOH. Since it is necessary to take into consideration of the policies and/or direction of infectious disease control of WHO headquarters as well as western pacific regional office, the Project has been exchanging and/or providing data or information gained from the project research.

② Investigation of the applicability and operability of the LAMP-based DNA detection kit for the diagnosis of malaria

As was described before, the Project applied the "*Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit*" with DNA extraction kit and detection device as the LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria, and this is used for project research and is introduced to major SMPEs of PHOs to provide supportive diagnosis results. The Project procured a total of 5 detection devices from the Eiken Chemical Co., Ltd, the developer of the kit and the fundamental patent holder of the LAMP method, and the Project, in close consultation with the MOH, introduced it to the IPL, the CMPE of the MOH and the SMPEs of PHOs in Luang Prabang province, Savannakhét province and Champasak province as of the time of the Mid-term Review. The kit is developed as a finished product and the reliability of test results are secured; however, it is not commercially available yet. The Project is verifying the applicability and operability of the kit in clinical practice, and sharing the observations with the said company. The MOH is aware of this situation; in fact, the MOH would rather had a high expectation of introducing LAMP-based DNA detection method with significantly higher detection sensitivity than that of microscopic method as well as the immunochromatography-based RDT.

5) Contributing Factors for Efficiency

At the initial phase of the Project, the Project could not obtain sufficient number of samples enough to analyze the distribution of prevalent malaria plasmodia through the field surveys. However, owing to the abovementioned training geared to a total of 156 health personnel, the Project was succeeded in establishing the sample collection network, and provided huge number of samples as of the time of the Mid-term Review.

This has enhanced the effectiveness of the Project; simultaneously, enhanced the efficiency from the aspect that the samples were efficiently collected.

6) Hindering Factors against Efficiency

As was described in the "*Progress Management of Project Activities*" above, there were several cases that it took a couple of months to obtain certifications of tax exemption on the basis of the R/D for the research instruments as well as reagents, which were brought from Japan. Some reagents with relatively short valid period had been shortened the days for expiration date since it had been kept in the customs for a certain period of time. Though it had not caused critical influence on the project activities, it is deemed to hinder the smooth implementation of project activities to some extent. Thus, this is regarded as a hindering factor against the efficiency of the Project.

Under such circumstances, the Project had asked the relevant authorities such as the MOH and the Ministry of Finance for improvement; however, this situation has remained unchanged as of the time of the Mid-term Review. At the IPL Annual Board Meeting 2015, this subject was raised in the presence of the Ambassadors of Japan, France and Luxembourg (the Lao-French and Lao-Lux Labs at the IPL) have the same difficulties. Therefore, the Project should have closer discussions with the MOH and other responsible authorities for concrete measures to cope with the problem right after the Mid-term Review.

4.4 Impact

The following positive impacts are confirmed and/or expected by the implementation of the Project.

1) Probability of achievement of envisaged Overall Goal(s)

The technical cooperation projects, implemented under the scheme of SATREPS, are not always required to set Overall Goal(s) due to its characteristic feature of "*joint research project*". Having said that, SATREPS Project puts greater emphasis on the practical utilization of research outcome of projects to society; therefore, the Team will discuss about two envisaged overall goals of the Project in this section as follows: "*Whether the knowledge and technologies regarding parasitological research, acquired from the Project, will be maintained or further enhanced*"; and "*Whether the policies and/or countermeasures for the control of malaria and other parasitic diseases, developed on the basis of the research outcomes gained by the Project, will practically be implemented in the Lao PDR*".

① Envisaged overall goal of "*Whether the knowledge and technologies regarding parasitological research, acquired from the Project, will be maintained or further enhanced*"

The IPL Parasitology Laboratory has been operated as the Lao-Japan Joint Laboratory, and the researchers of the NCGM, a Japanese project implementing agency, is proactive in doing operational management of the Laboratory. The JICA experts have been working on the project

research activities in consideration of nurturing Lao researchers so that, in future, they will be able to run and to maintain or even enhance the research capacity of the IPL Parasitology Laboratory by themselves. However, at this moment, the Lao staff members in the Laboratory are two (2) junior scientists and two (2) technicians, and they are regarded as young and not have much experiences. Though one (1) person who obtained Ph.D. degree in a Japanese university is working as a scientist; nevertheless, he is originally belonging to the NIOPH and is visiting the Laboratory just 2 to 3 days in a week. During the latter half of the project period, on the basis of the findings and outcomes the Project gained until now, it is expected that the Project will move on to more detailed and advanced analyses. Through the Lao researchers be working together with JICA experts, their knowledge, techniques and experiences as scientists are anticipated to further be enhanced. Having said that, it is natural that it will take ages for researchers acquire capacity as scientists enough to organize whole process of research activities including advanced research techniques such as designing primers, population genetic analysis techniques and so on, which are scheduled to be performed in the 2nd half of the project period. For these reasons, it is deemed to be difficult for the Lao researchers alone to acquire the capacity enough to maintain or even enhance the function of the IPL Parasitology laboratory within the project period.

Meanwhile, two (2) Lao researchers is studying in the UR, a Japanese project member university, for their doctoral and master's thesis, respectively, as of the time of the Mid-term Review, and these persons are expected to be an administrative officer and a scientist bearing leading role of the infectious disease control in the Lao PDR. On the other hand, the NCGM has been doing collaborative research with the IPL before the commencement of the Project, and indicated a clear intention to maintain this collaborative research (i.e., the Lao-Japan Joint Laboratory) in the IPL by any means on the basis of the recognition of the necessity of long-term efforts for nurturing Lao scientists, in the interview session with the Mid-term Review team. Further, many Japanese research institutes of the Project participate "*the Japanese Consortium for Lao Health Research*", established in 2003, of which Lao brunch office is in the NIOPH. The mission of the Consortium is not only to generate research outcomes but also to contribute the human resource development geared to Lao researchers, administrative officers and medical professionals. Under the circumstances, it is anticipated, even at the time of the Mid-term Review, that the efforts to nurture Lao researchers will be continuing with a long-range point of view.

② Envisaged overall goal of "*Whether the policies and/or countermeasures for the control of malaria and other parasitic diseases, developed on the basis of the research outcomes gained by the Project, will practically be implemented in the Lao PDR*"

As was described in the "*Effectiveness*" section, the JICA expert (NCGM researcher), as a representative of the IPL Parasitology laboratory, participated various meetings and conferences for the control of malaria and parasitic diseases staged by the MOH, WHO and so on, and provided research results, findings and technical advices based on his expertise and experiences. It is worth noting that the JICA expert has participated editing work for "*the National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination 2016-2020*" as an advisory member. Following the Mid-term Review, the MOH is planning to "*the guidelines for malaria prevention and diagnosis*" in 2018, and the Project is supposed to provide technical assistance by providing guidance, data, findings and outcome of the project research.

Meanwhile, the number of Schistosomiasis mekongi cases is on the decrease in recent years owing to the government efforts such as mass extermination with anthelmintic agents. The

Project is planning to feed back on the information of infected intermediate host in the investigated areas to the PHOs and DHOs, which are jurisdiction over those areas. However, the it is required for the Project to have close discussions with the stakeholders such as the MOH over the practical usage of observation and findings of the project research for making policies, countermeasures, etc. following the Mid-term Review.

Concerning Opisthorchiasis viverrini, the Project has commenced a social-science research for maintaining infection-free status after extermination with utilizing molecular epidemiological research findings and DNA detection techniques; during the latter half of the project period, the Project is considering to perform intervention trial from the viewpoint of "*positive deviance*". Given that intervention effects were confirmed, the Project will present *positive deviance*-based measures to the stakeholders such as the MOH. Therefore, the Project is required to determine indicators carefully, which are capable of measuring the intervention effects within the period of the Project, and to manage the progress strictly. In consideration of the practical implementation of the proposed interventions by the users such as the MOH, the Project is also required to develop implementation guidelines including intervention procedures, criteria for judging intervention effects, etc. with other necessary information such as necessary human resources and costs.

2) Other Positive Impacts

① Technical contribution to the medical entomological research on malaria endemicity

The Medical Entomology & Biology of Disease Vectors Laboratory (Lao-French Joint Laboratory 2) is working on the investigation and research on the prevalence of malaria-transmitting mosquitoes in 8 provinces in endemic areas. After the IPL was opened in January 2012, the NCGM, the research implementation agency on the Japanese side in the Project, has continued to provide technical cooperation to the IPL, and following the start of the Project too, the JICA experts have utilized visits to the IPL in order to conduct technology transfer especially concerning DNA analysis of malaria-transmitting mosquitoes. This technology transfer has entailed not only experimentation but also review of analysis conditions and interpretation of the obtained data; moreover, in addition to the visits, assistance has been offered via telephone, email and so on.

Owing to these efforts, the IPL has become able to identify species of malaria-transmitting mosquitoes and implement immunogenetic research on its malaria plasmodium infection rates. As a result of conducting malaria plasmodium DNA analysis on a total of 1,515 individual malaria-transmitting mosquitoes through such joint research among the IPL laboratories, a positive reaction was observed in 38 samples (2.5%). Upon analyzing this finding with the situation regarding human infections, there was found to be a positive correlation between the malaria plasmodium infection rate of malaria-transmitting mosquitoes and the infection rate in humans. These research findings were reported to the Lao National Health Research Forum staged in October 2015 by the Lao counterpart researchers. It is anticipated that these findings will be compiled into a research article and submitted for publishing in an international journal hereafter.

In order to effectively implement research and countermeasures on vector-borne diseases such as malaria and zoonoses, this kind of cross-sectoral research cooperation based on the One Health concept is required throughout the world. Accordingly, it is anticipated that further findings and research achievements will be made through such collaborations. Some of the research findings and outcomes have already been published in prestigious

internationals journals even as of the time of the Mid-term Review. Following the Mid-term Review, it is strongly anticipated that more important findings and outcomes are published internationally through scientific journals. On top of that, the achievements of the Project are also expected to disseminated worldwide hitherto through project researchers' networks such as the Institut Pasteur International Network, the membership of the malaria technical review panel of the GFATM, etc.

② Promotion of Inter-laboratory collaboration for cross-cutting research in the IPL

As was indicated in "*3.3 Verification of Implementation Process*", due to the need for cross-sectoral research based on the One Health concept for research and countermeasures on vector-borne diseases and zoonoses, the IPL also encourages joint research among laboratories. In the weekly meeting of laboratory directors (directors, vice-directors and laboratory managers), the research progress and findings of each laboratory are shared.

Specifically, the IPL is supposed to commence the "*Bio-Lao Project II*" under financial assistance from the United States government for one year from January 2017, and it intends to implement cross-sectoral epidemiological research in collaboration with the Arbovirus and Emerging Viral Diseases Laboratory (Lao-French Joint Laboratory 1), the Medical Entomology & Biology of Disease Vectors Laboratory (Lao-French Joint Laboratory 2), and the Vaccine Preventable Diseases Laboratory (Lao-Lux Joint Laboratory) which also participated in Phase I of the said Project in Khammouan Province in Central The Lao PDR, and the Lao-Japan Joint Laboratory, which is supported by the Project is supposed to join the said three (3) IPL laboratories from the 2nd phase.

Since the IPL is striving to promote cross-sectoral research through the meeting of laboratory directors and joint projects such as the above, the expansion of research can be anticipated not only in the second half of the Project but also even after the end of the project period, and it can be greatly anticipated that new achievements and human resources development will be realized as a result.

③ Establishment of Mass Sample Collection System on the basis of the Technical Training implemented by the Project

As was indicated in Activity 1-2-1, the Project is implemented with the aim of conducting technical transfer via the provision of training for a total of 156 persons due to recognition of the need for capacity building of administrative officers and health personnel in charge of infection countermeasures in rural areas. As a result (byproduct of the training), a system for periodically collecting the samples required for malaria research from medical facilities over a wide scope of endemic areas was established, and it became possible to conduct detailed and even spatio-temporal analyses using various techniques and technologies.

Thus, a large-scale system for collecting samples for malaria research was established by the time of the Mid-term Review, and given that this system is maintained after the end of the project period, it is anticipated that it will become possible to collect samples not only on other communicable diseases but also non-communicable diseases, making it possible to utilize these for research in other research fields.

④ Dispatch of IPL Lecturers for other Medical Facilities

In addition to the training activities conducted as a part of the abovementioned project

activities, the IPL has, at the request of the Lao government, has started to conduct trainings geared to the staff of military hospitals as well as the Institute of Disease Prevention, the Department of Military Health of the Ministry of National Defense on such topics as: 1) bio-safety and security; 2) strengthening of infection surveillance systems; 3) prevention, diagnosis and treatment of vector-borne diseases; and 4) medical epidemiology. The Lao-Japan Joint Laboratory is supposed to take charge of lectures and practical training on parasitic diseases out of vector-borne diseases from now on.

Looking ahead, such initiatives will contribute to the effective implementation of measures to address communicable diseases over the entire country of the Lao PDR and may be regarded as the future impacts of the Project.

⑤ Nurturing Japanese young researchers (Postgraduate students)

The capacity development of Lao researchers is placed as one of the Output of the Project; likewise, Japanese postgraduate students are also participating in the Project, five (1 form the TMDU, 2 from UT and 2 from UR) out of whom participated laboratory experiment work in the IPL and/or field surveys in the Lao PDR under the support of the JST or the AMED. This is implied that the Project is used for the place of capacity development not only Lao but also Japanese young researchers.

3) Negative Impact

No negative impact attributed to the implementation of the Project was observed as of the time of the Mid-term Review.

4.5 Sustainability

A self-sustainability as well as a self-deployment of the benefits provided by the Project can be expected to some extent as of the time of the Mid-term Review.

1) Political and Institutional Aspects

As was described in the "*Relevance*" section, the significance of the control of malaria and other parasitic diseases will be maintained even after the termination of the project period since the significance is clearly stated in "*the Eighth 5-Year Health Sector Development Plan 2016-2020*". Especially for malaria, the MOH, jointly with the Development partner organizations, has strengthened efforts to achieve the elimination of Falciparum malaria by 2015 followed by the elimination of all types of malaria by 2030. Therefore, it is anticipated that the importance of research outcomes, which will be presented to the MOH and other stakeholders, will be maintained even after the end of the project period since the outcomes are expected to be used as solid basis for making decisions, policies and countermeasures by the said agencies.

Meanwhile, the Project has introduced the LAMP-based plasmodium DNA detection methods for the diagnosis and research of malaria, and more or less completed to develop the LAMP-based DNA detection methods for the diagnosis of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini from the technical point of view. Concerning malaria, it is anticipated that more important research findings and outcomes with regard to asymptomatic malaria, the distribution of gene mutation responsible for drug resistance and so on based on the achievements in the 1st half of the project period will also be generated and utilized for discussing policies as well as countermeasures for

future elimination of malaria in the Lao PDR. Further, it is also expected that the Project will present effective intervention(s) for maintaining infection-free status after mass extermination of *S. mekongi* and *O. viverrini* eith anthelmintic agents. Therefore, the Project should commence discussions with relevant parties such as the MOH regarding how these research outcomes be applied to health policies or countermeasures for the control of malaria and other parasitic diseases practically.

2) Financial Aspects

Including the cases in Japan, in general, project search activities cannot be financed by the specific research budget of the organization only and continuous efforts are necessary to obtain support from external organizations such as competitive research funds. Therefore, it is difficult to evaluate the financial sustainability for the continuation of research at the time of the Mid-term Review. In the latter half of the project period, nevertheless, the JICA experts are planning to increase the opportunities to work together with Lao young researchers by designing research plan/protocol as well as analyzing and interpreting the data and results in order to nurture them as scientists. Moreover, the JICA experts are also planning to support the Lao researchers to develop research articles by compiling the said process of research (forming hypothesis, designing research plan/protocol, data interpretation, discussion, etc.) for further enhancement of their capability as scientists. Given that the Lao researchers acquire such capacity, it is expected that they also gain capacity to develop proposal for external competitive research funds in future, implying that the financial sustainability of the Project will also be enhanced to some extent.

On the other hand, the Project should prepare Standard Operating Procedures, etc. with necessary information such as reagents and costs for testing for each DNA detection method once it is technically well established. By the same token, concerning Opisthorchiasis viverrini, the Project is required to present the information regarding resource analyses such as necessary human resources, materials, implementation costs, etc. with technical guidelines for maintaining infection-free status after mass extermination of *O. viverrini* with anthelmintic agents in consideration of easy application and/or budget planning by the users (the MOH, development partner organizations, etc.).

3) Technical Aspects

As just described above, the Project is supposed to put more focus on the capacity development of Lao researchers as scientists for the latter half of the project period. Further, the Project is anticipated to generate research findings and outcomes with an eye on future practical application of them to society; at the same time, the Lao researchers are required to acquire capacity to develop scientific articles in English by themselves eventually. The capacity development of the Lao researchers should be continued with a long-term point of view, and as was described in the "*Impact*" section, the Japanese research institutes indicate their intention to continue the collaborative research with the Lao counterpart organizations by any means even after the end of the project period. Having said that, especially for Lao young researchers, it is required for them to make more efforts for the acquisition of novel and advanced technologies of health sciences including malariology and parasitology, in parallel with the day-to-day practice for improving English skill.

Meanwhile, in order to proceed the project research activities as well as evidence-based measures for the control of malaria and other parasitic diseases, it is considered to be important for enhancing capacity of health administrative officers as well as medical professionals at provincial and district levels, who assume the role of community health. On the basis of such recognition, the Project provided the said health personnel with training for improving laboratory testing skills, and is planning to continue once-a-year refresher training until the end of the project period. The Project

should have opportunities to discuss about the necessity for the continuation of the said training after the end of the project period with the MOH or other relevant parties; if the necessity arises, handover of the training would have been completed by the end of the project period.

4) Comprehensive Sustainability

Though it is difficult to measure exactly the sustainability of the Project, securing the comprehensive sustainability within the period of the Project would be anticipated to some extent due to the reasons mentioned above.

4.6 Conclusion

The Project established the implementation structure with related ministries and subordinating organizations, and generated the beneficial network with development partners by the time of the Mid-term Review. The communication and coordination among the Project and these related organizations put the Project forward, and generated the various research outcomes.

Concerning Malaria, the Project provided the technical training for the medical professionals in local areas. As the results of it, the Project succeeded in collecting great number of samples, proceeded various research, and obtained important findings and outcomes. Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the DNA detection methods have mostly been developed.

It is expected for the Project to generate further important research findings and outcomes, and to publish scientific papers. The Project also nurtured the Lao young researchers by working together with the JICA experts.

For these reasons, the Team observed that the Relevance of the Project is highly maintained, and the Effectiveness, the Efficiency and the Sustainability are also seemed to be high in general. Besides, the Team also found several positive impacts even at the time of the Mid-term Review; further, the achievements of the Project is anticipated to contribute the effective control of malaria and other parasitic diseases in the near future.

CHAPTER 5 RECOMMENDATIONS

The Mid-term Review Team made following recommendations based on the result of the Review.

(1) To the Project

- Standardization of testing methods developed by the Project

  When the DNA detection methods, developed by the Project is established technically, it is required for the Project to develop the SOPs with the information regarding costs for measurement, reagents and so on.

- Application of the LAMP-based DNA detection method for the malaria diagnosis in the Lao PDR

  At the time of the Mid-term Review, practical use of the "*Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection kit*" had been commenced as a support method for malaria diagnosis. However, in order to apply new diagnostic methods in the clinical practices, it is necessary for the Project to continue to accumulate data to evaluate its clinical performance for gaining approval of the LAMP-based plasmodium DNA detection method as an official "*standard methods*" for malaria diagnosis in the Lao PDR. It is required for the Project to provide necessary information to the MOH for their approval review.

- Establishment of active surveillance system for the monitoring of malaria asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation

  From the results of the Project, it is strongly demonstrated that there is a need to implement active surveillance in order to monitor asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation in the Lao PDR. Accordingly, it is required for the JICA experts to discuss with the IPL and the CMPE of the MOH, with regard to the implementation system of the active surveillance system by taking human resource, materials and costs into consideration in future.

- Intervention for the control of Opisthorchiasis viverrini

  Concerning Opisthorchiasis viverrini, in case that the Project plans to implement intervention trial, strict progress management is needed. Further, indicators for measuring intervention effects should be determined carefully so that the Project can evaluate the intervention effects by the end of the project period, and the timing of intervention is also carefully determined in consideration of the timing of mass extermination that is organized by the MOH. Additionally, given that the impacts of the intervention are confirmed, the application of it to other areas will be considered. Therefore, it is required for the Project to provide necessary information about the resources (e.g. human resource, materials, operational costs and so on) to the MOH, for supporting them to build the practical implementation plan.

- Utilization of the LAMP-based DNA detection methods for diagnosing Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini

  The LAMP-based DNA detection method has been developed for Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini. Microscopic method is used for the diagnosis of the said parasitic diseases when the MOH and PHOs perform active surveillance to investigate its endemicity in specific areas. The microscopic method has low sensitivity and specificity, then if the LAMP-based DNA detection is applied for the active surveillance, it will contribute more accurate measurement of endemicity. It is required for the Project to discuss with the MOH regarding the way of its utilization.

- Advocacy and PR activities of the Project

In order to promote the awareness and social mobilization for control of malaria and other parasitic diseases, the Project is recommended to strengthen the advocacy and public relations activities in light of enhancing the effect of project research findings and outcomes.

- Capacity development of the Lao young researchers

  The Project has already been working on capacity development of the Lao young researchers. It is important for the Project to continue such efforts in consideration of available budget and project period, and subsequently to develop a detailed plan for it. When the Project develops a plan for nurturing the Lao young researchers, the Project should consider utilizing the various schemes available, including government-sponsored exchange students and so on.

- Revision of the PDM

  The Team observed the necessity to adjust the narrative summary and OVIs to align the original concept of the collaborative research properly. It is required for the Project to revise the PDM for the smooth progress management.

(2) To the MOH

- Improvement of the situation regarding the certification of tax exemption for research instruments and equipment.

  When research instruments and equipment were brought from Japan to the Lao PDR, it took longer time than expected to go through procedures for acquisition of tax exemption certificates for them from the Lao authority concerned in accordance with the R/D. Especially, some reagents with relatively short valid period had been shortened the days for expiration date since it had been kept in the customs for a certain period of time. The Project had appealed improvement to relevant ministries and agencies such as the MOH, the Ministry of Finance; however, this situation has remained unchanged as of the time of the Mid-term Review. Therefore, it is strongly required for the MOH to cope with the problem right after the Mid-term Review.

- Translation and/or application of research findings and outcomes into policies and/or countermeasures

  Since the Project is implemented under the scheme of the SATREPS, practical application and/or translation of the project achievements (i.e., research findings and outcomes, research collaboration mechanisms, human research development, etc.) into modifying and/or improving policies, countermeasures, etc. are strongly encouraged to the authorities concerned, especially for the MOH, of the control and elimination of malaria and other parasitic diseases in the Lao PDR.

(3) To the Lao Young Researchers

- Further Self-Help Endeavor to enhance International Competitiveness

  It is important for the Lao young researchers to come in touch with the advanced scientific research by themselves, in order to acquire international competitiveness. To achieve it, the Lao young researchers are advised to carry out self-help efforts further, such as reading more English papers, holding journal club, capturing novel scientific information, seeking opportunities to obtain Ph.D. degree in the future and so on.

END

As of February 25, 2015
Project Duration:
5 years from project starting date stated in R/D

Project Title: The Project for Development of Innovative Research Technique in Genetic Epidemiology of Malaria and Other Parasitic Diseases in Lao PDR for Containment of Their Expanding Endemicity

Target Areas: (Malaria) Savannakhet Province, Phongsaly Province, Luang Prabang Province, Khammouan Province, Saravane Province, Sekong Province, Champasak Province, and Attapeu Province, (Schistosomiasis mekongi) Khong District, Mounlapamok District
Champasak Province and Vang Vieng, (Opisthorchiasis viverrini) Vientiane Capital, Khammouan Province, Attapeu Province and Champasak Province

Target Group:

Direct Beneficiaries: Approximately 20 scientists and health officers engaged in the development of innovative research technique in genetic epidemiology of malaria and other parasitic diseases
【Pasteur Institute of Laos (IPL)】 8 in the IPL including 2 main counterpart in the parasitology laboratory
【Center of Malariology, Parasitology and Entomology, Ministry of Health】 4 of Helath officers engaged in parasitic disease control
【Savannakhet Health Department including Sepon District Hospital】 4 of malaria control officers
【Champasack Health Department including Khong District Health Office】 2 of schistosomiasis mekongi control officers

Indirect Beneficiaries: Approximately 4 million inhabitants in the target areas
【Inhabitants at risk of malaria】 3 million people
【Inhabitants at risk of Schistosomiasis mekongi】 65,000 people
【Inhabitants at risk of Opisthorchiasis viverrini】 2.5 million people

Narrative Summary	Objectively Verifiable Indicators	Means of Verification	Important Assumptions
Project Purpose			
Research results based on the methods for the genetic emidemiology dignosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are utilised in government services such as in diseases control.	1. Risk map for each 3 diseases are developed and shared with relevant institutions/ departments such as the Department of Communicable Diseases Control, Ministry of Health. 2. Based on the research results, suggestion paper(s) for diseases control of each 3 diseases are developed and shared with relevant institutions/ departments such as the Department of Communicable Diseases Control, Ministry of Health.	1. Project report 2. Project report	1. Malaria and parasitic diseases control related policies are not altered drastically in Lao PDR. 3. Trained counterparts do not leave their position so as to affect the outputs of the Project.
Outputs			
1 More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are developed and utilized.	1. Both sensitivity and specificity of the newly developed diagnostic methods for malaria show more than 90%. 2. The developed genetic diagnostic method for Schistosomiasis mekongi is used in 80% of samples from intermittent host snails and patients' feces, in the target areas. 3. The developed genetic diagnositic method for Opisthorchis viverrini is used at the IPL as sub-diagnostic method for all patients from target areas. 4. At least 5 scientific papers on research are published in peer-reivewed journals.	1. Project report 2. Project report 3. Project report 4. Abstract of published papers	
2 Temporal and spatial emidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini is monitored.	1. eBURST diagrams* using microsatellite markers are temporally made. *eBURST diagram shows patterns of evolutionary descent among clusters of related genotypes from multilocus molecular markers, such as SNPs, microsatellite DNA loci and so on. 2. At least 2 scientific papers on research are published in peer-reivewed journals in five years.	1. Project report 2. Project report 2. Abstract of published papers	
3 Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.	1. At least 2 markers for the drug resistant malaria are elucidated. 2. A scientific paper on emergence and expansion of the drug resistant malaria is published in a peer-reviewed journal at least one in 5 years.	1. Project report 2. Project report 2. Abstract of published papers	
4 Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government.	1. Slide Positivity Rate (SPR) under the microscope and positivity rate by genetic diagnosis coincide at the rate of more than 90% for diagnosing malaria and opisthorchiasis viverrini. 80% for schistosomiasis mekongi. 2. Eduation material(s) for the prevention of 3 diseases are developed and submitted to the local government.	1. Project report 2. Project report	
5 Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.	1. Basic training program on malaria and parasitic diseases control for Lao researchers is conducted once every year. 2. At least five research presentations are made in scientific forums or scientific papers are published in a peer-reviewed journals by Lao researchers in five years. 3. Annual report of activities by researchers and administrative officers are presented in Laos National Helath Research Forum (NHRF).	1. Project report 1. Training plan 2. Project report 2. Abstract of conference paper/ published articles 3. Project report 3. Abastract of the NHRF presentation	

Activities		Inputs	
		Japan	Lao PDR
1	**More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are developed and utilised.**	1. Chief Adviser 2. Project Coordinator 3. Experts on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini. 4. Training in Japan for malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini. 5. Equipment for research and project activities as shown in the equipment list. 6. Others	1. Research scientists and staff on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini. 2. Research staff at field stations in pilot provinces. 3. Office space and laboratoy space at the IPL. 4. Existing equipment at IPL and field stations. 5. Available data, information and specimens related to the Project. 6. Others
1-1	To establish the research environment of the IPL.		
1-2-1	To improve the procedure for collecting samples of patients (*Plasmodium* from blood and eggs from feces).		
1-2-2	To separate the parasites and extract the DNAs from samples of 1-2-1.		
1-3-1	To collect snails and fish (intermediate hosts) which are responsible for transmitting schistosomiasis and opisthorchiasi.		
1-3-2	To separate parasites and extract DNAs from snails and fish (intermediate hosts), which are responsible for transmitting schistosomiasis and opisthorchiasi.		
1-4	To design the specific primers to amplify the genes of each parasite, and to define the most appropriate condition for their amplification in PCR and LAMP methods.		
1-5	To report the developed technology in conferences, papers and patents.		
2	**Temporal and spatial emidemiological situation of pathogen and vector of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini is monitored.**		
2-1	To collect and analyze the existing data of the Ministry of Health (on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini).		
2-2	To evaluate the data collection system in each province and district in target areas.		
2-3-1	To conduct population genetic analyses of collected parasites by utilising molecular phylogenetic analyses.		
2-3-2	To temporally construct eBURST diagram using microsatellite markers.		
2-3-3	To analyze the change of population structure of the parasite genome by cluster analysis. (*Cluster analysis is a method to infer genetic population structure (e.g. number of ancestral lineages) using multilocus molecular markers based on Bayesian		
2-4-1	To elucidate the factors of deciding and expanding epidemics molecular epidemiologically using the obtained scientific evidences, and to report outcomes.		
2-4-2	**To conduct genetic epidemiological survey of human Plasmodium knowlesi infection which are emerging in Laos.**		
2-4-3	**To apply Dojindo's kit for analyzing G6PD deficiency in endemic population**		
3	**Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analysed.**		
3-1	To analyze the mutation of the chloroquine resistant gene (*pfcrt*), the artemisinin resistant gene (*K13*) and amino acids and their adjecent microsatellite markers flanking the gene.		
3-2	To analyze the reported multidrug resistant gene mutations, and to elucidate the specific distribution of the mutation in the Lao PDR.		
3-3	To search the genetic marker and to elucidate its function for clarifying the mechanism of artemisinin resistance.		
4	**Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with local government.**		
4-1	To apply the developed PCR methods and LAMP methods in Activity 1 to the field stations to be compared with the existing microscopic diagnosis.		
4-2	To advise appropriate action and treatment based on the above diagnostic methods.		
4-3	To consider social approach for disease prevention, and to suggest health education for people.		
5	**Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.**		
5-1	To provide guidance and collaborate with the researchers in the IPL according to the collaborative research plan.		
5-2	To invite Lao researchers to NCGM, and to conduct collaborative researches.		
5-3	To provide a series of training for the Lao researchers and technicians ranging from the basic biology to advanced molecular and genetic epidemiology in the Lao PDR.		
5-4	To plan and host the trainings for administrative officers from CMPE and Ministry of Health, and to promote their capacity of building health plans and strategies.		
5-5	To hold the workshop in the Laos National Health Research Forum to present the outputs of research activities.		

Pre-Conditions

1. IPL continuously functions as a research institution.
2. Lao side allocates necessary personnel for the research project.
3. Related institutions are coordinated.

Annex 2: Schedule of Mid-term Review

			JICA Dr. Kaname KANAI (Team Leader) Ms. Eri FUJITA (Cooperation Planning)	JICA Dr. Youichi INOUE, JICA Consultant (Evaluation Analysis)	AMED Mr. Katusmi ISHII (AMED officer)	AMED Prof. Kiyoshi KITA (Project Officer)
27 Nov	Sun	A.M.	-	-	-	-
		P.M.	-	17:50 Arrival at Vientiane (VN 2896)	-	-
28 Nov	Mon	A.M.	-	09:00-12:00 IPLScientific Advisory Board Meeting @ IPL Parasitology Lab (Lao-Japan Lab) Presentations	-	-
		P.M.	-	15:00 Interview with Lao-Japan Lab Staffs @ IPL	-	-
29 Nov	Tue	A.M.	-	09:00 Interview with Dr. Iwagami, Ms. Masuda @ IPL	-	-
		P.M.	-	15:00 Interview with Entomology Lab Mg and Staff @ IPL 19:00- Interview with Dr. Iwagami, Ms. Masuda @ IPL	-	-
30 Nov	Wed	A.M.	-	08:10 Travel to Pakse by Air (QV223) 09:24 Move to Khong Island by car	-	-
		P.M.	-	15:00-15:30 Interview with Khong District Health Office 16:00- Khong island Field Observation with Scientific Advisory Board Members	-	-
1 Dec	Thu	A.M.	-	Travel Back to Pakse by Car	-	-
		P.M.	-	13:00 Ms. Souliya, Deputy Chief, Malaria ST, Pakse 14:30 Champasak Provincial Education Department	-	-
2 Dec (National Day)	Fri	A.M.	-	12:30 Travel to Vientiane by Air (QV306)	-	-
		P.M.	-	Preparation	-	-
3 Dec	Sat	A.M.	-	Preparation	-	-
		P.M.	-	Preparation	-	-
4 Dec	Sun	A.M.	-	10:00- Interview with Dr. Iwagami, Ms. Masuda @ IPL	-	-
		P.M.	-		-	-
5 Dec	Mon	A.M.	-	10:00 Interview with Dr.Asechi @ EoJ	-	-
		P.M.	-	16:00 Interview with JICA HA, Ms. Yamagishi (Flexible) 17:30 Interview with Dr. Bounsy, Director of CMPE@ CMPE Project Director	-	-
6 Dec	Tue	A.M.	-	Preparation	-	-
		P.M.	-	14:00 Interview with Dr. Thipphavanh (Malaria)@ WHO 15:00 Interview with Dr. Chitsavang (NTD) @ WHO	-	-
7 Dec	Wed	A.M.	-	9:00 Interview with Dr.Namchay,DHO, Kamuan by Telephone 10:50 Interview with Dr. Virasack, PHO LPB by Telephone		-
		P.M.	-	14:00 Interview with Dr. Tiengkham, PHO, SVK by Telephone 14:45 Interview with Ms. Vilaiphone,PHO, SVK by Telephone		-
8 Dec	Thu		-	Preparation	-	-
9 Dec	Fri	A.M.	-	11:00 Interview with UNICEF incharge of WASH	-	-
		P.M.	-	Preparation	-	-
10 Dec	Sat	A.M.		Preparation		-
		P.M.	17:50 Arrival at Vientiane (VN2897)	Preparation	20:45 Arrival of Vientiane (TG573)	-
11 Dec	Sun	A.M.	Preparation with internal members			-
		P.M.	Preparation with internal members			-
12 Dec	Mon	A.M.	09:00-10:00 Interview with Dr. Paul, Director of IPL (Second Interview) @ IPL Project Manager			
		P.M.	13:30-14:30 Interview with Dr. Sengchan, Deputy Director of NIOPH @NIOPH 14:30-15:30 Interview with Dr. Somphou, Deputy Head of Research Department @ NIOPH			20:45 Arrival of Vientiane (TG574)
13 Dec	Tue	A.M.	10:30-12:00 Interview with Mr. Somphane, Deputy Chief of Laboratory Division, CMPE@CMPE			
		P.M.	Internal meeting		Meeting with Paul Grey@IPL	
14 Dec	Wed	A.M.	8:30-13:30 Scientific Meeting @NIOPH 1F Meeting Room			
		P.M.	Internal Meeting (JICA, AMED) for 1st evaluation report with First Draf, Briefing Drafting Report and Minutes→Email to C/P			
15 Dec	Thu	A.M.	09:00-11:00 Discussion of Evaluation Report Draft with C/P, Revision of Evaluation Report@NIOPH 3F Meeting Room			
		P.M.	Internal Meeting (JICA, AMED) for 2nd evaluation report with first Draft, Briefing			21:30 Depart to BKK (TG575)
16 Dec	Fri	A.M.	09:00-11:00 Discussion on evaluation, Finalize Evaluation Report & Minutes 11:00-12:00 Report to Murakami CR, JICA Office			-
		P.M.	16:30-17:15 Report to Ambassader of Japan in the LAO PDR			-
			20:10 Depart to Hanoi (VN920)		21:30 Depart to BKK (TG575)	

Annex3-1: Verification of Implementation Process

Probability of achievement of the Project	Project Purpose	Whether the Project Purpose of "*Research results based on the methods for the genetic epidemiology diagnosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are utilized in government services such as in diseases control*" is expected to be achieved by the end of the project period.	① Degree of achievement of Objectively Verifiable Indicators (OVIs) ② Comprehensive analysis	① Achievements of OVIs ② Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, Laotian counterpart personnel (C/P)	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
	Outputs	Whether the Output 1 of "*More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are developed and utilized*" is achieved or expected to be achieved by the end of the project period.	Degree of achievement of OVIs	① Achievements of OVIs ② Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Whether the Output 2 of "*Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini is monitored*" is achieved or expected to be achieved by the end of the project period.		① Achievements of OVIs ② Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Whether the Output 3 of "*Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed*" is achieved or expected to be achieved by the end of the project period.		① Achievements of OVIs ② Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Whether the Output 4 of "*Based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government*" is achieved or expected to be achieved by the end of the project period.		① Achievements of OVIs ② Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Whether the Output 5 of "*Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened*" is achieved or expected to be achieved by the end of the project period.		① Achievements of OVIs ② Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
Inputs	Inputs from the Japan Side	Whether JICA Experts were dispatched as scheduled.	Comparison of plan with actual result	Results of Input	① Input records ② Project reports	資料レビュー Document review
		Whether equipment for project activities was provided as planned.		Results of Input (incl. Information for status of utilization)	① Input records ② Project reports	① Document review ② Direct observation
		Whether C/Ps' training in Japan and/or third countries were implemented as planned.		Results of acceptance of trainees	① Input records ② Project reports	Document review
		Whether local cost from JICA side were implemented as scheduled.		Budget and implementation result	① Input records ② Project reports	Document review
	Inputs from the Laotian side	Whether C/Ps were appropriately allocated enough to implement project activities.		① Achievement of Input ② Views of related players	① Input records ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
		Whether office space for JICA experts was provided.		Achievement of Input	① Input records ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
		Whether local cost from the Laotian side were implemented appropriately.		① Achievement of Input ② Views of related players	① Input records ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
Implementation Process	Planned activities	Whether the project activities were implemented as scheduled.	Comparison of plan with actual result	Accomplishment of project activities	Project reports	① Document review ② Questionnaire
		Whether the PDM was updated in accordance with surroundings of the Project under the agreement amongst relevant parties.		Vicissitude of PDMs and its reasons for modification	Meeting minutes of the Joint Coordinating Committee (JCC)	① Document Review ② Questionnaire ③ Interview

Annex3-1: Verification of Implementation Process

	Technical transfer	Whether methods and/or approaches of technical transfer were appropriate.		Methods and contents of technical transfer	① Project reports ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
	Management system	Who, how and how often the progress of the Project was monitored, and consequent findings were reflected to the operation of the Project.		① Progress monitoring system ② Feedback system	① Project reports ② JICA Experts	① Document review ② Questionnaire
		How the decision-making process for modification of the project activities, assignment of personnel, etc was.		Process for decision-making	① Project reports ② JICA Experts	① Document review ② Questionnaire
		How the communication and cooperative relationship amongst players in the Project was.		JCC and another meeting	① Project reports ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire
		Whether Project information was effectively shared.		JCC and other meetings minutes	① Project reports ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire
	Ownership and Autonomy	How ownership and autonomy of implementing bodies including C/Ps and beneficiaries were.		Contribution, attitude, etc. for the project activities.	① Project reports ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
	Problems on implementation process	Whether there were obstacles or problems for the implementation of the project activities.		Contributing and inhibitory factors	① Project reports ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview

Relevance	Priority	Consistency of the Project Purpose with Laotian policies with regard to health (infectious disease control) and/or the development of science and technology.		Comparison with Laotian policies	Related policies in Lao PDR	① Document for related policies ② Related national departments such as the Ministry of Health (MOH), the Ministry of Science & Technology (MOST) and the Ministry of Education and Sports (MOES)	① Document review ② Interview ③ Questionnaire
		Consistency with Japan's ODA policies and JICA's aid policies	Relativity with prioritized area in Japan's ODA policies	Comparison with Laotian health related policies	Prioritized area in Japan's ODA policies for the Lao PDR	① Japan's ODA policies for the Lao PDR ② Basic Design for Piece and Health (Global Health Cooperation)	Document review
			Relativity with prioritized area in JICA's aid policies	Comparison with Laotian health related policies	Place of health assistance in the JICA's aid policies	JICA Country Analysis Paper for the Lao PDR (March 2015)	Document review
	Necessity	Relevance of target group	Consistency of needs of target group with the Project Purpose		① Experiences and capacity of counterpart organizations (C/Ps) ② Epidemic situation of the target parasitic diseases (i.e., malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini) in the Lao PDR	① Project documents ② JICA Experts, a medical attaché of the Embassy of Japan in the Lao PDR, and C/P ③ Health statistics reports	① Document review ② Interview
	Appropriateness of implementation method	Appropriateness of research design (incl. target diseases) and approaches in the framework of SATREPS			Background and/or process for determining research design and/or approaches	① JICA ex-ante evaluation report ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Special consideration	Special assiduities for gender issues, environment, social grades, environment, ethnic groups, etc.		Views of related players	① JICA Experts ② JICA HQ and Lao Office	① Document review ② Interview
		Japan's technical superiority			① Japan's Assistance experiences incommunicable disease control (especially for parasitic diseases) and/or the development of science and technology field ② Skills and experiences of JICA experts	① Project documents ② JICA HQ and Lao Office ③ JICA Experts	① Document review ② Interview
Effectiveness	Achievements	Status of the achievements of Outputs	<Output 1> Whether it can be said that more convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are developed and utilized or anticipated to be developed and utilized at an expected level by the end of the project period.		① Status of achievements of OVIs ② Outputs other than the scope of the project activities	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
			<Output 2> Whether it can be said that temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini is monitored anticipated to be monitored at an expected level by the end of the project period.		① Status of achievements of OVIs ② Outputs other than the scope of the project activities	① Project reports ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview ③ Direct observation

			<Output 3> Whether it can be said that mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed or anticipated to be analyzed at an expected level by the end of the project period.		① Status of achievements of OVIs ② Outputs other than the scope of the project activities	① Project reports ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview ③ Direct observation
			<Output 4> Whether it can be said that education for people is strengthened and endemicity is monitored together with the local government based on the surveillance system using the developed diagnostic methods on malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini, or anticipated to be strengthened and monitored at an expected level by the end of the project period.		① Status of achievements of OVIs ② Outputs other than the scope of the project activities	① Project reports ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview ③ Direct observation
			<Output 5> Whether it can be said that climate-based infectious disease epidemic prediction models for malaria, pneumonia and diarrhoea are developed or anticipated to be developed at an expected level by the end of the project period.		① Status of achievements of OVIs ② Outputs other than the scope of the project activities	① Project reports ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview ③ Direct observation
		Probability of the achievement of the Project Purpose	Whether it can be said that research results based on the methods for the genetic epidemiology diagnosis of malaria, schistosomiasis mekongi and opisthorchiasis viverrini are utilized in government services such as in diseases control or anticipated to be utilized by the end of the project period at an expected level.	Comprehensive judgment	① Status of achievements of OVIs ② Outputs other than the scope of the project activities	① Project reports ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview ③ Direct observation
	Cause-and-effect relationship	Whether the Project Purpose was attained as a result of the achievements of Outputs	Whether there was no logical error from the aspect of cause-and-effect relationship.	Verification of logical relationship	Verification by the Joint Review Team	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Whether there were any other effective approaches for the achievement of the Project Purpose	Verification of implementation approaches	① Verification by the Joint Review Team ② Views of related parties	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
	Contributing and inhibitory factors	Appropriateness of the important assumptions	Whether important assumptions are appropriate from aspects of current situation.	Confirmation current situation	Verification by the Joint Review Team	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
			Whether important assumptions are appropriate from aspects of current situation and logical relationship	Verification of logical relationship	Verification by the Joint Review Team	① Project document ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
		Whether important assumptions are fulfilled.	Confirmation of the current status of "*Malaria and parasitic diseases control related policies are not altered drastically in Lao PDR*".		Records of communications and collaborations with the said external supporters	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Confirmation of the current status of "*Trained counterparts do not leave their position so as to affect the outputs of the Project*".		Turnover rate of Laotian researchers	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Other unexpected factors		① Views of related players ② Other expected and/or unexpected external factors	① JICA Experts, C/P ② Project documents	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
Efficiency	Time resource	Whether Outputs were attained as scheduled.			Progress control of the project activities	① Project documents ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
	Quality, quantity and timing of	Whether quality, quantity and timing of inputs were appropriate.	Whether the number and period, areas of expertise and timing of dispatch of JICA expert were appropriate.	Comparison of results and plan	① Record of dispatch of experts ② Attitude and performance of experts	① Input records ② Project documents ③ JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview

	inputs		Whether types, quantity and timing of installation were appropriate.		① Record of provision of the installed instruments, devices and equipment ② Utilization status of the installed items	① Input records ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Direct observation ④ Interview
			Whether timing, contents and duration of training in Japan and/or third countries were appropriate, and how the training contributed for the achievement of Outputs.		① Acceptance of trainees ② Views of related parties	① Input records ② Trainees ③ JICA Experts	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Whether timing, contents, duration follow-up of on-site trainings were appropriate.		① Records of on-site trainings ② Accomplishments of trainings	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Whether the budget for local costs was appropriate.		Local costs from the Japan side	① Input records ② JICA Experts and C/P	① Document review ② Interview
			Whether allocation of Laotian C/Ps and budget for the Project were appropriate.		Local costs from the Laotian side	① Input records ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Collaboration with other resources	Whether there was any collaboration with other resources such as relevant ministries, research institutes and development partner organizations contributed for the achievement of Outputs.		Benefits derived from collaborative activities with other resources.	① Project documents ② JICA Experts ③ The said other resources	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Whether there were any contributing factors to efficiency.			Views of related parties	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② Interview
		Whether there were any inhibitory factors to efficiency.			Views of related parties	① Project documents ② JICA Experts, C/P	① Document review ② interview
Impact	Probability of achievement of (envisaged) Overall Goals	(Envisaged Overall Goal) Whether the research techniques and technologies, which are introduced by the Project, are anticipated to be utilized or applied for research of non-targeted parasitic diseases after the end of the project period by the self-help efforts of the Laotian side.		Exploration based on the current status	① Degree of achievement of the Project Purpose ② Verification of Sustainability	① Project documents ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		(Envisaged Overall Goal) Whether the three (3) targeted parasitic diseases are anticipated to be well-controlled in the Lao PDR.		Exploration based on the current status	① Degree of achievement of the Project Purpose ② Verification of Sustainability	① Project documents ② Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
	Other impacts	Whether there are any positive and/or negative impacts confirmed and/or expected to be generated other than Overall Goal	Positive impacts		Other necessary information	① Project reports ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Negative impacts		Other necessary information	① Project reports ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
Sustainability	Probability of maintaining the benefits derived from the Project	Political and institutional aspects	Whether the policies related to communicable disease control (especially for parasitic diseases) and the development of science and technology would be maintained and/or further enhanced.		Laotian related policies	① Related authorities such as the MOH, the MOST and the MOES ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Financial aspect	Whether the budget for benefits derived from the Project will be maintained in the south regions.		Laotian related policies and budget	① Related authorities such as the MOH, the MOST and the MOES ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
			Whether the budget and personnel for the enhancement of the		Laotian related policies and budget	① Related authorities such	① Document review

			benefit will be allocated.			as the MOH, the MOST and the MOES ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	② Questionnaire ③ Interview
		Technical aspect	Whether the research techniques provided by the Project will be maintained and enhanced autonomously.		① Presence of maintenance mechanism for of technical benefits ② Opportunities to update technical skills	① Project reports ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	① Document review ② Questionnaire ③ Interview
		Contributing and inhibitory factors	Whether countermeasures against envisaged inhibitory factors for sustainability were discussed by the Project and C/Ps.		Views of related players	① Project reports ② JICA Experts	① Questionnaires ② Interview
	Comprehensive sustainability	Whether the comprehensive sustainability is secured or not, in the view of above-mentioned aspects.			Views of related players	① Project documents ② JICA Experts, C/P ③ Views of related players	Analytical evaluation by the Joint Review Team

Annex 4: List of Interviewees

1. **Center of Malariology, Parasitology and Entomology (CMPE), Ministry of Health**

Dr. Bouasy HONGVATHONG	Director (Project Director)
Mr. Somphane SENGPHIMTHONG	Deputy Chief of Laboratory Division

2. **Institut Pasteur du Laos (IPL), Ministry of Health**

Dr. Paul BREY	Director (Project Manager)

Parasitology Laboratory

Dr. Moritoshi IWAGAMI	Lao-Japan Lab Manager (JICA Expert)
Ms. Kimiko MASUDA	Project Coordinator (JICA Expert)
Dr. Phonepadith XANGSAYARATH	Scientist, Lao-Japan Lab (NIOPH)
Dr. Phonepadith KHATTIGNAVONG	Junior Scientist, Lao-Japan Lab
Dr. Sengdeuane KEOMALAPHET	Junior Scientist, Lao-Japan Lab
Mr. Lavy LORPHACHANH	Lab Technician, Lao-Japan Lab
Ms. Pheovaly SOUNDALA	Lab Technician, Lao-Japan Lab

Medical Entomology & Biology of Disease Vectors Laboratory

Dr. Sebastien MARCOMBE	Scientist, Lao-French Joint Lab 2
Ms. Julie BOBICHON	Junior Scientist, Lao-French Joint Lab 2

3. **National Institute of Public Health (NIOPH), Ministry of Health**

Dr. Sengchanh KOUNNAVONG	Deputy Director
Dr. Somphou SAYASONE	Deputy Head of Health Research Department

4. **World Health Organization Lao PDR Office (WHO)**

Dr. Chitsavang CHANTHAVISOUK	National Professional Officer (Malaria)
Dr. Thipphavanh CHANTHAPASEUTH	National Professional Officer (Neglected Tropical Diseases)

5. **Department of Communicable Diseases Control (DCDC), Ministry of Health**

Dr. Rattanaxay PHETSOUVANH	Deputy Director General

6. **Champasak Provincial Health Office, Ministry of Health**

Dr. Chansamone THANABOUSASY	Director, Section of Malariology, Parasitology and Entomology,

7. **Luang Prabang Provincial Health Office, Ministry of Health**

Dr. Virasack BANOUVONG	Director, Section of Malariology, Parasitology and Entomology

8. **Savannakhet Provincial Health Office, Ministry of Health**

Dr. Tiengkham PONGVONGSA	Director, Section of Malariology, Parasitology and Entomology
Ms. Vilaiphone PHANHANANH	Laboratory Staff, Section of Malariology, Parasitology and Entomology,

9. **Khong District Health Office, Champasak Provincial Health Office**

Dr. Chansamone THANABOUASY	Director, Section of Malariology, Parasitology and Entomology

10. **Yommalath (Ngommalath) District Health Office, Khammouane Provincial Health Office, Ministry of Health**

Dr. Namchay OUTSA	Director, Yommalath District Health Office

11. **United Nations Children's Fund (UNICEF)**

Bishunu Timilsina,	Chief, Water, Sanitation and Hygiene

The Japanese Side

Group Leader	Name	Organisation	Position (Title)	Duration				Note
				Start		End		
				Year	Month	Year	Month	
o	Shigeyuki KANO	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Director	2013	5	2019	3	
	Moritoshi IWAGAMI	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Senior Research Fellow	2013	5	2019	3	
	Emilie MATSUMOTO-TAKAHASH	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Researcher	2014	4	2019	3	
	Hitomi OHKUSA	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Research Assistant	2014	4	2016	3	Resigned
	Masami NAKATSU	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Research Assistant	2013	5	2019	3	
	Akihiro DOI	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Research Assistant	2015	4	2016	7	Resigned
	Satoshi NAKAMURA	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Guest Researcher	2013	5	2019	3	
	Megumi SATO	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Guest Researcher	2015	4	2019	3	
	Satoru KAWAI	Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM	Guest Researcher	2015	4	2019	3	
	Tamotsu NAKASA	Technical Cooperation Center, Bureau of International Medical Cooperation, NCGM	Director	2013	5	2019	3	
	Masamine JIMBA	Department of Community and Global Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo	Professor	2013	5	2019	3	
	Ken ING CHERNG ONG	Department of Community and Global Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo	PhD. Student (D2)	2015	4	2018	3	
	Hitomi ARAKI	Department of Community and Global Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo	PhD. Student (D1)	2015	4	2019	3	
	Jun KOBAYASHI	Department of Global Health, School of health Sciences, University of the Ryukyus	Professor	2013	5	2019	3	
	Daisuke NONAKA	Department of Global Health, School of health Sciences, University of the Ryukyus	Assistant Professor	2014	10	2019	3	
	Emiri TAKAHASHI	Department of Global Health, School of health Sciences, University of the Ryukyus	PhD. Student (D2)	2015	4	2018	3	
	Masashi AZUMA	Department of Global Health, School of health Sciences, University of the Ryukyus	Master Student (M1)	2015	4	2017	3	
	Inthavong NOUHAK	Department of Global Health, School of health Sciences, University of the Ryukyus	Master Student (M1)	2015	4	2017	3	
	Toshihiro MITA	Department of Molecular and cellular Parasitology, Juntendo University, School of Medicine	Professor	2013	5	2019	3	
	Takashi KUMAGAI	Section of Environmental Parasitology, Department of International Health Development, Division of public Health, Graduate School of Tokyo Medical and Dental University	Assistant Professor	2013	5	2019	3	
	Masafumi YAMABE	Section of Environmental Parasitology, Department of International Health Development, Division of public Health, Graduate School of Tokyo Medical and Dental University	PhD. Student (D2)	2014	4	2017	3	

The Laos Side

Group Leader	Name	Organisation	Position (Title)	Duration				Note
				Start		End		
				Year	Month	Year	Month	

o	Bouasy HONGVANTHONG	Center of Malariology, Parasitology and Entomology(CMPE), MOH	Director	2014	5	2019	4	
	Paul BREY	Institut Pasteur du Laos (IPL)	Director	2014	5	2019	4	
	Phonepadith KHATTIGNAVONG	Parasitology Department, IPL	Junior Scientist	2014	5	2019	4	
	Sengdeuane KEOMALAPHET	Parasitology Department, IPL	Junior Scientist	2015	10	2019	4	
	Lavy LORPHACHANH	Parasitology Department, IPL	Laboratory Technician	2014	5	2019	4	
	Pheovaly SOUNDALA	Parasitology Department, IPL	Laboratory Technician	2014	5	2019	4	
	Eng SAYAVONG	Parasitology Department, IPL	Junior Scientist	2014	5	2014	7	Resigned
	Somsanith CHONEPHETSARATH	Entomology Department, IPL	Laboratory Technician	2015	8	2019	4	
	Phoutnalong VILAY	Center of Malariology, Parasitology and Entomology(CMPE), MOH	Vice Chief of Administration Unit	2015	8	2019	4	
	Sengchanh KOUNNAVONG	National Institute of Public Health (NIOPH), MOH	Deputy Director	2015	8	2019	4	
	Somphou SAYASONE	National Institute of Public Health (NIOPH), MOH	Deputy Head of Research Division	2015	8	2019	4	
	Phonepadith XANGSAYARATH	National Institute of Public Health (NIOPH), MOH Parasitology Department, IPL	Deputy Head of Health Research Outcomes Management Division	2015	8	2019	4	
	Bounnaloth INSISIENGMAI	Department of Communicable Disease Control (DCDC), MOH	Chief of Parasite & NTD Control Division	2015	8	2019	4	
	Boualam KHAMLOME	Department of Communicable Disease Control (DCDC), MOH	Deputy of Disease Prevention Division	2015	8	2019	4	
	Chandavone PHOXAY	Department of Hygiene and Health Promotion (DHHP), MOH	Deputy Director	2015	8	2019	4	
	Soulighothai THAMMALANGSY	Department of Hygiene and Health Promotion (DHHP), MOH	Staff, Primary Health Care Division	2015	8	2019	4	
	Khatthanaphone PHANDOUANGANGSY	Department of Hygiene and Health Promotion (DHHP), MOH	Staff, Primary Health Care Division	2015	8	2019	4	
	Bouthavong PHENGSISOMBOUN	Department of Training and Research (DTR), MOH	Deputy Director	2015	8	2019	4	
	Sengdavy XAYPADITH	Department of Training and Research (DTR), MOH	Research Management Division	2015	8	2019	4	
	Southida VIENGVILAY	Department of Training and Research (DTR), MOH	Staff, University Education Division	2015	8	2019	4	
	Tiengkham PONGVONGSA	Division of Malariology, Parasitology and Entomology, MOHSavannakhet Provincial Health Department, MOH	Chief of Malariology, Parasitology and Entomology Section	2015	8	2019	4	

Long-term Experts

as of Nov, 2016

No	Name	Job Title	Period
1	Moritoshi IWAGAMI (Mr.)	Expert (Research Supervision/ Genetic Analysis and Evaluation Research)	01 July 2014 - 30 June 2017
2	Tetsuo YAMASHITA (Mr.)	Project Coordinator	07 Aug 2014 - 05 Aug 2016
3	Kimiko MASUDA (Ms.)	Project Coordinator	28 July 2016 - 27 July 2018

Short-term Experts

No	Name	Job Title	Period
1	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	02 June - 05 June 2014
2	Dr. Moritoshi IWAGAMI (Mr.)	Short-term Expert	15 June - 22 June 2014
3	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	25 Aug - 31 Aug 2014
4	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	13 Oct - 19 Oct 2014
5	Dr. Masami NAKATSU (Ms.)	Short-term Expert	14 Oct - 19 Oct 2014
6	Prof. Jun KOBAYASHI (Mr.)	Short-term Expert	15 Oct - 18 Oct 2014
7	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	15Oct - 20 Oct 2014
8	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	07 Dec - 14 Dec 2014
9	Dr. Masami NAKATSU (Ms.)	Short-term Expert	25 Jan- 14 Feb 2015
10	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	21 Feb- 26 Feb 2015
11	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	21 Feb- 26 Feb 2015
12	Prof. Jun KOBAYASHI (Mr.)	Short-term Expert	14 Mar- 25 Mar 2015
13	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	20 Mar- 24 Mar 2015
14	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	18 April- 25 April 2015
15	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	28 May - 03 Jun 2015
16	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	31 May - 04 Jun 2015
17	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	26 Aug - 28 Aug 2015
18	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	26 Aug - 29 Aug 2015
19	Prof. Jun KOBAYASHI (Mr.)	Short-term Expert	25 Aug - 30 Aug 2015
20	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	11 Oct - 15 Oct 2015
21	Dr. Masami NAKATSU (Ms.)	Short-term Expert	11 Oct - 24 Oct 2015
22	Dr. Akihiro DOI (Mr.)	Short-term Expert	11 Oct - 24 Oct 2015
23	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	12 Oct - 16 Oct 2015
24	Dr. Daisuke NONAKA (Mr.)	Short-term Expert	12 Oct - 14 Oct 2015
25	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	12 Oct - 15 Oct 2015
26	Dr. Masami NAKATSU (Ms.)	Short-term Expert	05 Dec - 11 Dec 2015
27	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	25 Jan - 27 Jan 2016
28	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	06 Feb - 11 Feb 2016
29	Dr. Daisuke NONAKA (Mr.)	Short-term Expert	21 Feb - 28 Feb 2016
30	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	24 Feb - 27 Feb 2016
31	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	15 Mar - 17 Mar 2016
32	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	25 April - 30 April 2016
33	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	28 April - 1 May 2016
34	Dr. Masami NAKATSU (Ms.)	Short-term Expert	06 Jun - 11 Jun 2016
35	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	12 Jun - 15 Jun 2016
36	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	25 Jun - 30 Jun 2016
37	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	01 Aug - 04 Aug 2016
38	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	25 Sep - 30 Sep 2016
39	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	17 Oct -20 Oct, 2016
40	Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)	Chief Advisor	25 Oct -30 Oct, 2016
41	Prof. Satoru KAWAI (Mr.)	Short-term Expert	25 Oct -30 Oct, 2016
42	Dr. Masami NAKATSU (Ms.)	Short-term Expert	25 Oct - 30 Oct 2016
43	Dr. Daisuke NONAKA (Mr.)	Short-term Expert	22 Oct- 30 Oct 2016
44	Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)	Short-term Expert	26 Oct - 29 Oct 2016
45	Dr. Megumi SATO (Ms.)	Short-term Expert	21 Oct - 30 Oct 2016
46	Prof. Masamine JIMBA (Mr.)	Short-term Expert	18 Nov - 22 Nov 2016

Annex 5-3: SATREPS Counterpart Researchers' visit to Japan

Counterpart Researcher's visit to Japan

Name	Sex	Affiliation	Position	Place	Purpose of Visit	Date of Dispatch	Date of Return	Contents	Duration (days)
Dr. Paul BREY	Male	IPL	Director	NCGM	Meeting and Discussion	20150608	20150612	Nessary discussion regarding to the SATREPS Project.	5
Dr. Antoine des GRAVIERS	Male	IPL	Chief Financial Officer	NCGM	Meeting and Discussion	20150608	20150612	Nessary discussion regarding to the SATREPS Project.	5
Dr.Paul BREY	Male	IPL	Director	NCGM, JICA, AMED	Research Meeting and Discussion	20160524	20160530	Participation of Scientific Meeting and discussion	7
Dr. Antoine des GRAVIERS	Male	IPL	Chief Financial Officer	NCGM, JICA, AMED	Research Meeting and Discussion	20160524	20160530	Participation of Scientific Meeting and discussion	7
Dr.Bouasy HONGVANTHONG	Male	CMPE	Director	NCGM, JICA, AMED, University of Ryukyus	Research Meeting and Discussion	20160725	20160730	Participation of Scientific Meeting and discussion, Review of research proposal of SATREPS members	6
Dr. Sengchanh KOUNNAVONG	Female	NIOPH	Deputy Director	NCGM, JICA, AMED, University of Ryukyus	Research Meeting and Discussion	20160725	20160730	Participation of Scientific Meeting and discussion, Review of research proposal of SATREPS members	6

1) Training in Japan (Short Term)

Name	Sex	Organisation	Position	Trainig Site	Trainig Area	Departure Date	Arraival Date	Training Contents	Duration (days)
Ms. Somsanith CHONEPHETSARATH	Female	IPL	Medical Entomology & Biology of Disease Vectors Laboratory, Laboratory Techinician	NCGM and Jikei University School of Medicine, Department of Tropical Medicine	To learn the skills and knowledges of molecular biology of malaria and other infectious diseases	20160130	20160227	To learn basic and advanced research techniques on malaria and other insect-borne infectious diseases, such as in vitro malaria parasite culture, in vitro malaria drug susceptibility test, DNA diagnostic techniques (PCR & LAMP methods) of patients samples and insect vector samples and so on	28
(Planned) Dr. Sengdeuane KEOMALAPHET	Female	IPL	Parasitology Laboratory, Junior Scientist	NCGM	To learn the skills and knowledges of molecular biology of malaria and other infectious diseases	20170201	20170302	To learn basic and advanced research techniques on malaria, such as in vitro malaria parasite culture, in vitro malaria drug susceptibility test, DNA diagnostic techniques (PCR & LAMP methods) and analysis of drug resistant malaria of patients samples.	32

2) Training in Japan (Long Term)

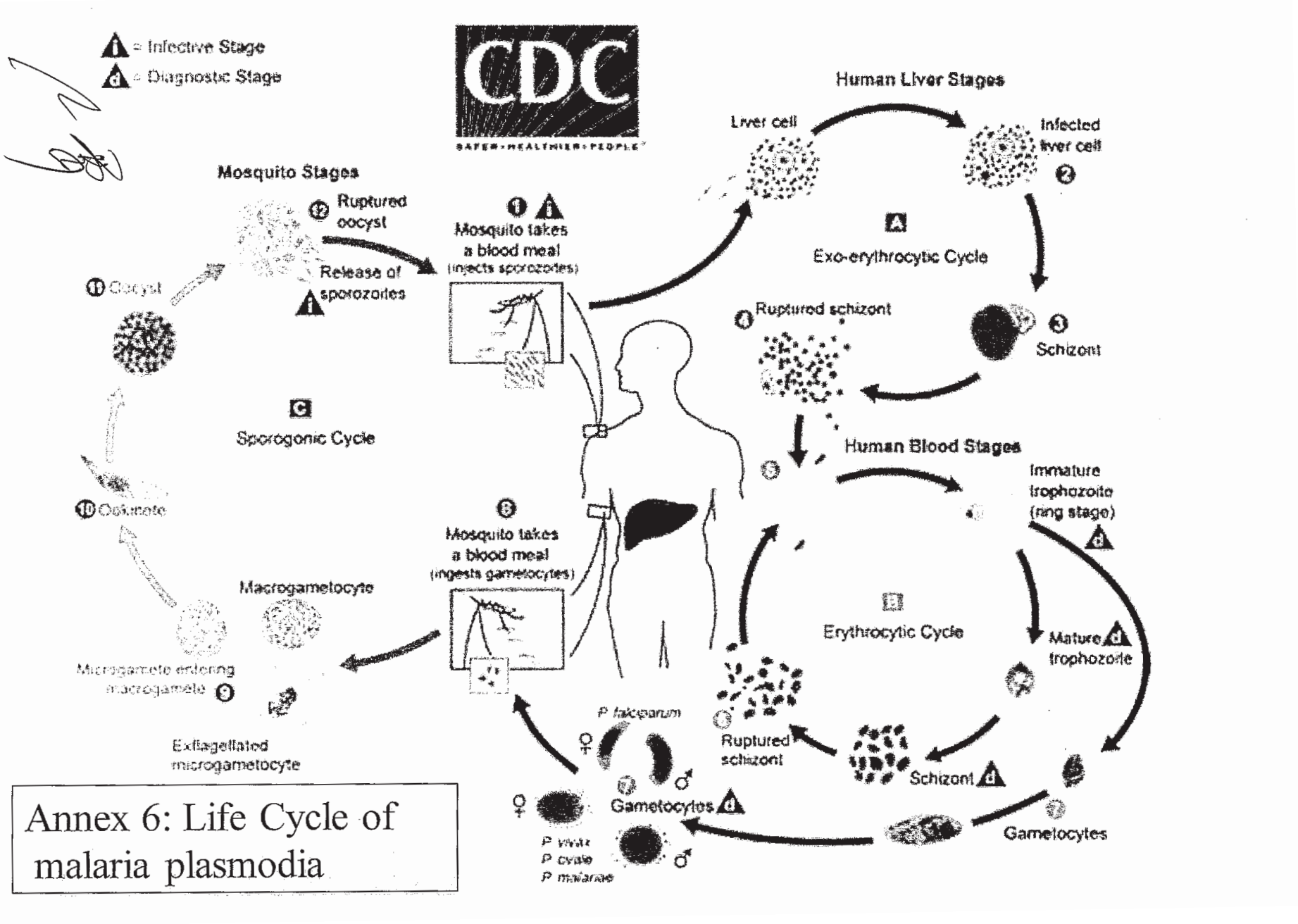
Name	Sex	Organisation	Position	Trainig Site	Trainig Area	Departure Date	Arraival Date	Training Contents	Duration (days)
Mr.Phoutnalong VILAY	Male	CMPE	Vice Chief of Administration Unit	University of Ryukyus	To learn the skills and knowledge of malaria epidemiology and control	20160401	20190331	To learn the skills and knowledge of Parasitology, Tropical Medicine, Public Health, Statistics, evaluating current malaria control strategy and make an effective strategy for malaria elimination	1096

Annex 5-5 : Domestic Training in the Lao P.D.R

Date	Training Name	Venue	Course Summary	Participants
22-26 June, 2015	Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians	IPL	1. Lecture 2. Practice 3. Group Discussion & Presentation 4. Evaluation	Attapeu (12)
13-17 July, 2015	Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians	IPL	1. Lecture 2. Practice 3. Group Discussion & Presentation 4. Evaluation	Sekong (11), Champasak (15)
10-14 Aug, 2015	Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians	IPL	1. Lecture 2. Practice 3. Group Discussion & Presentation 4. Evaluation	Savannakhet (17), Saravane (14)
19-20 Oct, 2015	Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians	Savannakhet Province	1. Lecture 2. Practice 3.Evaluation	Savannakhet (35)
22-23 Oct, 2015	Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians	Champasak Province	1. Lecture 2. Practice 3.Evaluation	Champasak (18)
26-27 Oct, 2015	Training Course for LAMP methood for medical lab technicians	Saravane Province	1. Lecture 2. Practice 3.Evaluation	Saravane (13)
28-29 Oct, 2015	Training Course for LAMP methood for medical lab technicians	Sekongt Province	1. Lecture 2. Practice 3.Evaluation	Sekong (8)
15-17 Aug, 2016	Training Course for LAMP methood for medical lab	IPL & CMPE	1. Lecture 2. Practice	CMPE Vientiane (3)
22-23 Aug, 2016	Training Course for LAMP methood for medical lab technicians	Savannakhet Province	1. Lecture 2. Practice	Provincial Health Office, Savanakhet (5)
24-25 Aug, 2016	Training Course for LAMP methood for medical lab technicians	Champasak Province	1. Lecture 2. Practice	Provincial Health Office, Champasak (3)
5-7 Sep, 2016	Training Course for LAMP methood for medical lab technicians	Luangprabang Province	1. Lecture 2. Practice	Provincial Health Office, Luangpravang (6)
27-28 Sep, 2016	Training Course for LAMP methood for medical lab technicians	Luangprabang Province	1. Follow upp Practice 2. Q&A	Provincial Health Office, Luangpravang (2)
31 Oct, 2016	Follow up Training	Attapeu Province	1. Follow up Lecture 2. Q&A	Attapeu (23)
1 Nov, 2016	Follow up Training	Champasak Province	1. Follow up Lecture 2. Q&A	Champasak (33)
2 Nov, 2016	Follow up Training	Sekong Province	1. Follow up Lecture 2. Q&A	Sekong (19)
3 Nov, 2016	Follow up Training	Saravane Province	1. Follow up Lecture 2. Q&A	Saravane (21)
4 Nov, 2016	Follow up Training	Savannakhet Province	1. Follow up Lecture 2. Q&A	Savannakhet 1 (37)
14 Nov, 2016	Follow up Training	Savannakhet Province	1. Follow up Lecture 2. Q&A	Savannakhet 2 (24)

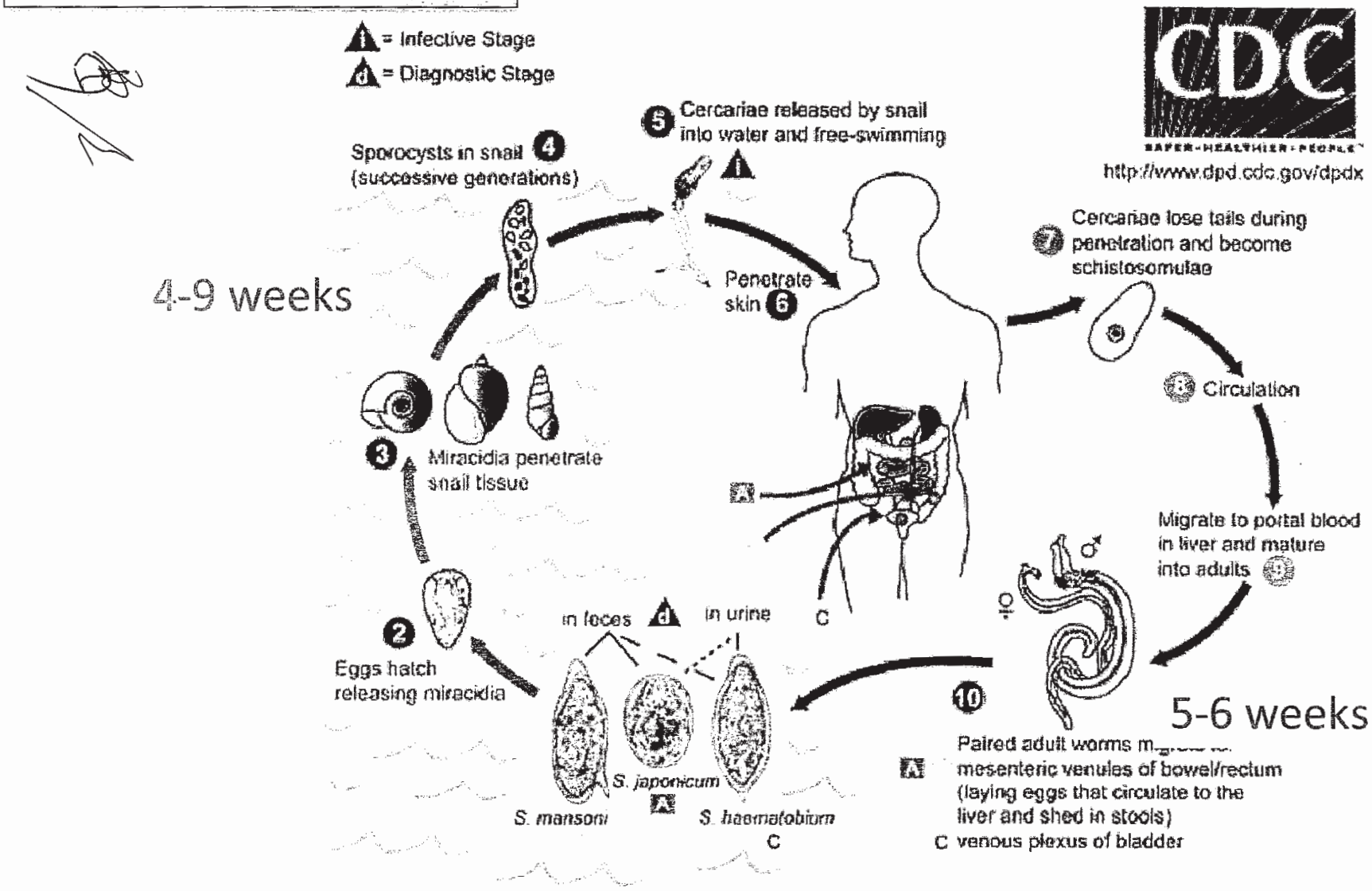
Grand Total : 319

Procurement	Items	Qty	Allocation	Arrival Date	Usage Status	Note	Price (Yen)
Purchased in Japan	DNA Sequencer (Genetic Analyzer)	1	Institut Pasteur du Laos	20141007	In Use		20,366,530
Purchased in Japan	Microchip Electrophoresis System for DNA/ RNA Analysis	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		6,167,880
Purchased in Japan	Real-time PCR System	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		4,950,000
Purchased in Japan	Thermal Cycler	3	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		2,646,000
Purchased in Japan	Microscope + CCD Camera Syatem	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		2,987,100
Purchased in Japan	Spectrophotometer	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		1,989,000
Purchased in Japan	Gel Imaging System	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		904,500
Purchased in Japan	Biological Shaker	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		585,000
Purchased in Japan	Zoom Stereo Microscope	1	Institut Pasteur du Laos	20141031	In Use		539,190
Purchased in Japan	Ultra Low Freezer (-80℃)	2	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		5,039,136
Purchased in Japan	Laboratory Freezer (-30℃)	3	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		1,102,107
Purchased in Japan	Pharmaceutical Refrigerators	1	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		334,800
Purchased in Japan	Multi-Gas Incubater	2	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		3,093,524
Purchased in Japan	Refrigerated Centrifuge with Roter for 1.5ml, Roter for 15ml and 50ml tubes	2	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		2,227,000
Purchased in Japan	Biological Safty Cabinet	1	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		1,296,000
Purchased in Japan	DNA Concentrator	1	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		1,314,000
Purchased in Japan	Tabletop Mini Centrifuge	2	Institut Pasteur du Laos	20141124	In Use		621,000
Purchased in Japan	Aspirator System	1	Institut Pasteur du Laos	20150225	In Use		67,500
Purchased in Japan	Balance	1	Institut Pasteur du Laos	20150225	In Use		15,000
Purchased in Japan	Draft Chamber	1	Institut Pasteur du Laos	20160128	In Use		240,000
Purchased in Japan	Real-time Turbidity Measuring Instrument	1	Institut Pasteur du Laos	20160128	In Use		2,876,800
Purchased in Japan	4WD Car	1	Institut Pasteur du Laos	20160216	In Use		4,914,000
Purchased in Japan	Loopamp Homeothermal Equipment with UV lamp	5	Institut Pasteur du Laos (1) CMPE Vientiane (1) Provincial Health Office, Savannakhet (1) Provincial Health Office, Champasak	20160503	In Use		3,060,000
						Grand Total (Yen)	67,336,067

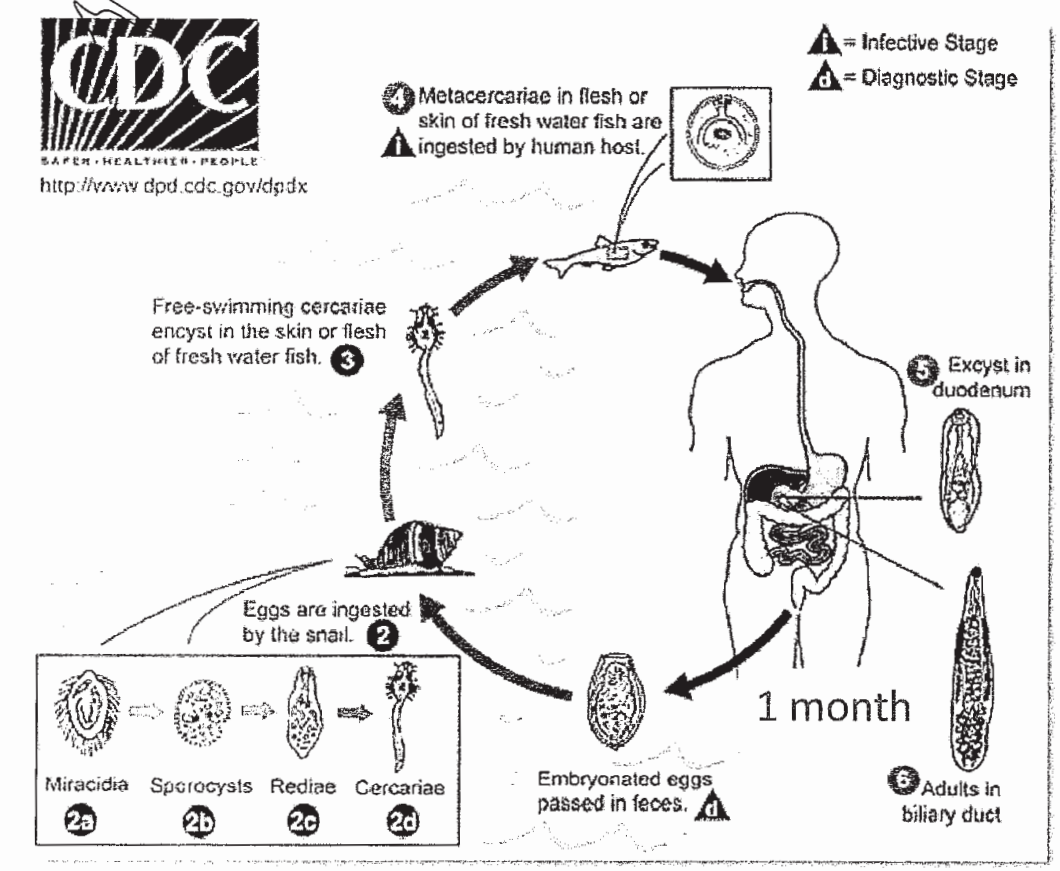


Annex 6: Life Cycle of malaria plasmodia

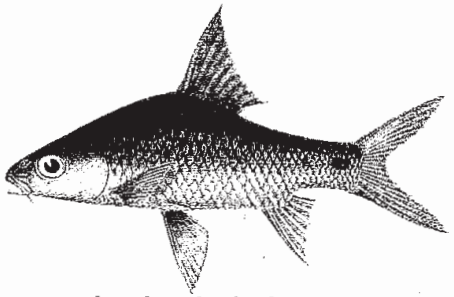
Annex 6 : Life Cycle of Schistosomiasis



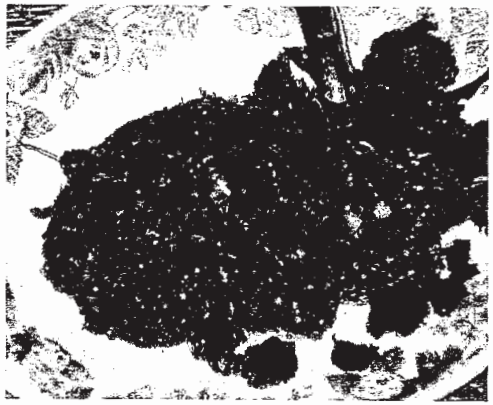
Annex 6 : Life Cycle of Opisthorchiasis Viverrini



Hampala dispr

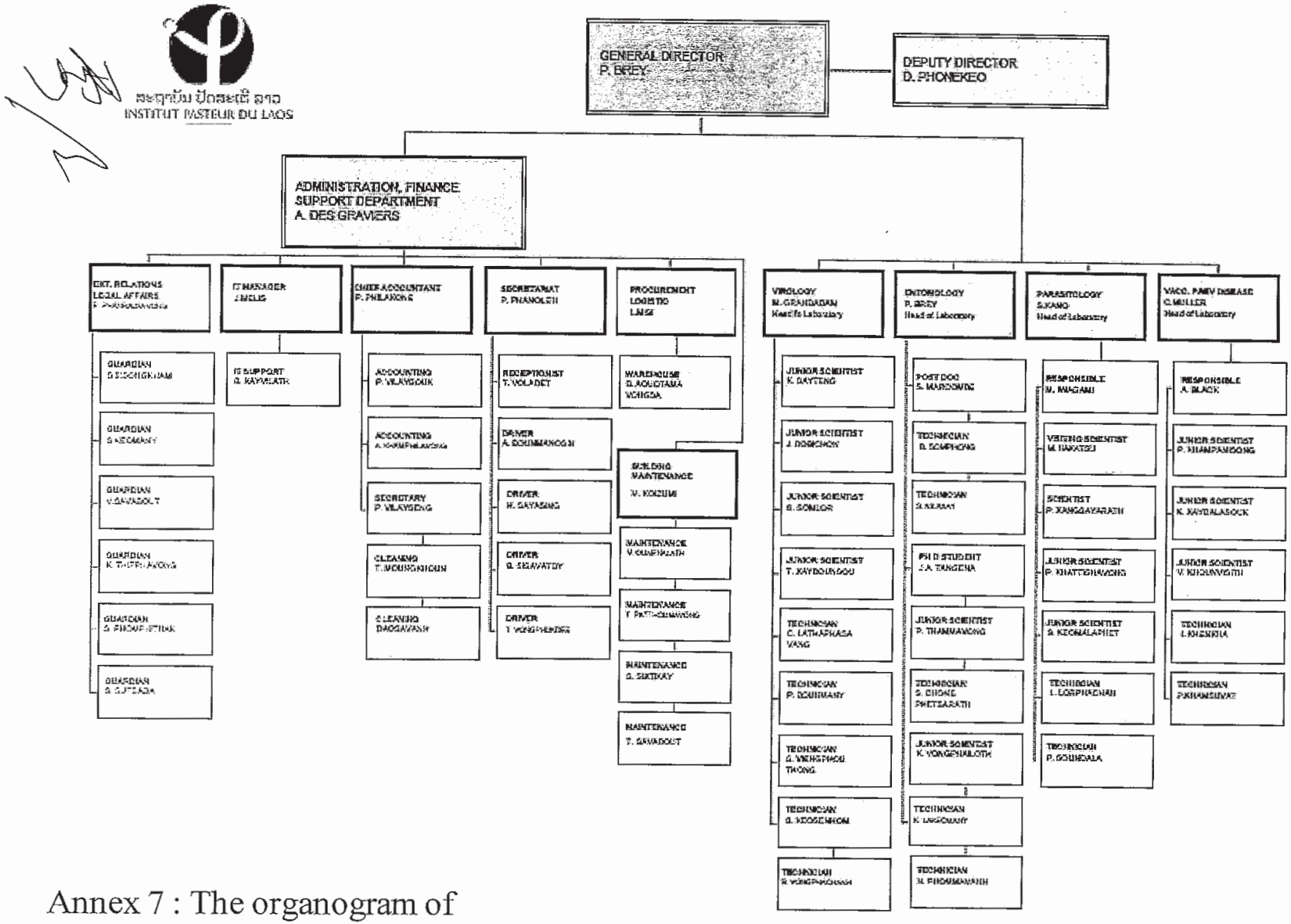


Cyclocheilichthys siaja



Koi Pla

1,000-5,000 Eggs/day/adult female, lives 10-25 years



Annex 7 : The organogram of the Institut Pasteur du Lao

ジャイカ
JICA